

**ANHİDRİT İÇEREN KOPOLİMER-İLAÇ TAŞIYICI  
SİSTEMLERİN TASARIMI, NİTROKSİT ARACILIĞIYLA  
POLİMERİZASYONU (NMP) VE KARAKTERİZASYONU**

**DESIGN, SYNTHESIS BY NITROXIDE MEDIATED  
POLYMERIZATION AND CHARACTERIZATION  
ANHYDRIDE CONTAINING COPOLYMER-DRUG CARRIER**

**SHAHED PARVİZİKHOSROSHAHI**

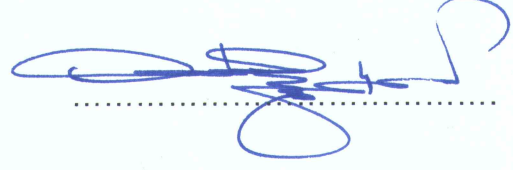
**Prof. Dr. HATİCE KAPLAN CAN**  
**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisans Üstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin  
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

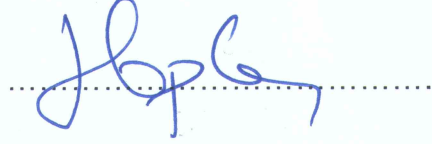
2017

Shahed ParviziKhosroshahi'in hazırladığı **Anhidrit İçeren Kopolimer-İlaç taşıyıcı Sistemlerinin Tasarımı, Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyonu (NMP) ve Karakterizasyonu** adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA ANABİLİM DALI'** nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali Güner  
Başkan



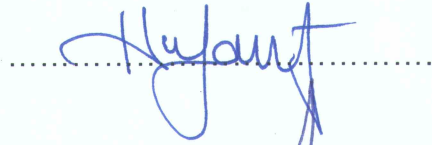
Prof. Dr. Hatice Kaplan Can  
Danışman



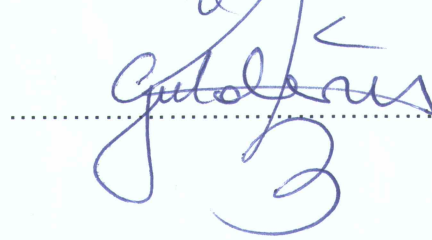
Prof. Dr. Müşerref Önal  
Üye



Prof. Dr. Handan Yavuz Alagöz  
Üye



Yrd. Doç. Dr. Gülderen Karakuş  
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü tarafından DOKTORA TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof.Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

## YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun 2020... tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

23. / 06 / 2022

(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

Shahed Davani

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserler bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.



19.06.2017

Shahed PârviziKhosroshahi



# ÖZET

## **Anhidrit İçeren Kopolimer-İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Tasarımı, Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyonu (NMP) ve Karakterizasyonu**

**Shahed ParviziKhosroshahi**

**Doktora, Kimya Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice Kaplan Can**

**Haziran 2017, 174 sayfa**

Malzeme biliminde ve biyoteknolojik alandaki son yıllarda olan gelişmeler, birbirini besleyerek birçok alanda kullanılabilecek ve istenilen fonksiyonel yapı ve nitelikte olan malzemelerin tasarımına, sentezine, karakterizasyonuna ve uygulamalarına imkân tanımaktadır. Suda çözünen ilaç taşıma sistemleri büyük moleküllere kovalent olarak bağlanmış kanser kemoterapi ajanları ile elde edilerek var olan yöntemlerdeki istenmeyen etkileri ve biyolojik uyumluluğu sağlamak amacıyla tasarlanarak sentezlenmektedir. Kanser, hücre büyümesini ve gelişmesini sağlayan normal genlerin düzen bozukluğu veya düzenleyici mekanizmalardan sapması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Çoğu kanser türleri lokalizasyonuna ve evrelerine bağlı olarak cerrahi müdahale, radyoterapi ve/veya kemoterapi gibi uygulamalarla tedavi edilebilmektedir.

5-Florourasil (5-FU) en geniş kullanım alanına sahip ve gerek tek bir ajan ile gerekse kombinasyonlu biçimde intravenöz olarak hastaya uygulanan antikanser ilaçlardan biridir. Başta over kanseri olmak üzere, meme, akciğer, tiroid kanseri, yumuşak doku sarkomaları ve bazı tür lösemilerin tedavisinde kullanılır. 5-FU düzensiz kalp atışları, kalp yetmezliği gibi istenmeyen birçok yan etkisi vardır. Biyolojik sistemlerde;

polimer-ilaç konjugasyonu kullanılması ile ilacın aktivitesini arttırmak ve istenmeyen yan etkilerinden kurtulmak ya da en aza indirmek mümkün olabilmektedir.

Antikanser ilaçlarının büyük kısmı düşük molekül ağırlığına sahiptir ve hücre duvarını geçerek kolayca hücre içine girebilir. Bu durum ilaçların yarı ömrünü azalttığı gibi tümör hücreleri yanında diğer hücrelerin de zarar görmesine sebep olur. İlaç yan etkilerini azaltmak, biyoyararlanımı arttırmak ve spesifik hedeflendirme sağlamak amacıyla lipozomlar, katı lipit nanopartiküller, polimerik miseller ve bu miselleri içeren kendiliğinden oluşan polimerik agregatlar, inorganik ve metal nanopartiküller gibi farklı boyut ve büyüklüklerde çeşitli ilaç taşıma ve salım sistemleri geliştirilmektedir.

Bu tezin amacı, N-vinil piroolidon (NVP) ve Maleik anhidrit (MA) monomerlerinin yük transfer kompleksi (CTC) üzerinden kompleks radikal kopolimerizasyonu ve bir kontrollü polimerizasyon yöntemi olan nitroksit aracılığıyla polimerizasyon (NMP) tekniklerinin kullanılması ile farklı kompozisyonlarda poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin sentezi, kopolimer karakterizasyonu ve her iki yöntemle sentezlenen yapıların özelliklerinin karşılaştırılması ve elde edilen bu fonksiyonel ve suda çözünebilir özel kopolimer sistemlerinin 5-FU ile polimer-ilaç kimyasal konjugasyonudur.

MA ve NVP arasında oluşan kompleks UV-Vis spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Komplekse ait molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon^{AD}$ ), kompleks denge sabiti ( $K^{AD}$ ) ve geçiş enerjisi ( $E^{AD}$ ) Scott eşitliği ile belirlenmiştir. Sentezlenen kopolimerlerin kompozisyonları elementel analiz yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Kopolimer içerisinde bulunan MA ve NVP monomerlerinin reaktiflik oranları element analizi verileri ve Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) denklemleri kullanılarak hesaplanmıştır.

Yük transfer kompleks (CTC) üzerinden kompleks radikal kopolimerizasyon ve kontrollü polimerizasyon yöntemi olan nitroksit aracılığıyla polimerizasyon (NMP) ile elde edilen kopolimer ve poli(MA-ard-NVP)-5-FU sistemlerinin yapı özellikleri ATR-FTIR, NMR ( $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{19}F$ ), XRD, Floresans, HR-Raman, UV-Vis, DSC, TGA ile belirlenmiştir. MALDI-TOF-MS yöntemi kullanarak molekül ağırlığının tayini yapılmıştır.

Antitumor ve biyolojik aktiviteye sahip poli(MA-*ard*-NVP) ve poli(MA-*ard*-NVP)-5FU konjugatları Saos-2 hücreleri üzerinde canlı hücre sayısının ve hücre çoğalmasının değerlendirilmesi amacıyla dsDNA yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

**Anahtar Kelime:** Yük Transfer Kompleksi (CTC), Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon (NMP), Poli(Maleik anhidrit-*ard*-N-vinil piroolidon), Polimer-İlaç konjugasyonu.

# **ABSTRACT**

## **Design, Synthesis by Nitroxide Mediated Polymerization and Characterization Anhydride Containing Copolymer-Drug Carrier**

**Shahed ParviziKhosroshahi**

**Doctor of Philosophy, Department of Chemistry**

**Supervisor: Prof. Dr. Hatice Kaplan Can**

**June 2017, 174 pages**

In recent years developments in the field of material science and biotechnology, feed off each other and the desired functional structure for use in many areas of design, quality of materials, synthesis, characterization and applications of enables cancer caused deregulation of cell growth and normal genes, or a disease caused by diversion of regulatory mechanisms. In developed countries cancer is the second among the most common cause of death after cardiovascular diseases. According to recent statistics, in 2020, there will more than 15 million cancer patients around the world. Most of cancer depending on the type and stage of cancer localization can be treated with applications such as chemotherapy, surgery, and radiation therapy.

Nowadays treatment of cancers is possible not only with cytotoxic drugs and biological agents, but also via antibodies. Cancer therapy drug is analog of a fluorinated pyrimidine. 5- fluorouracil (5-FU) with the wide range of usage and is one way the need as well as a single agent administered to the patient intravenously in

combination with anticancer drugs. This drug especially is used to treat ovarian cancer, breast, lung, thyroid cancer, soft tissue sarcomas, and particularly for treat certain types of leukemia. 5-FU have undesirable complications such as irregular heartbeats, heart failure. Other side effects are mouth sores, digestive problems, hair loss, hand and foot syndrome. It is possible to increase the activity of 5-FU and eliminate/or minimize side effects with polymer/5-FU conjugation in biological systems.

Polymers, metals, nanoparticles, or maybe ceramic materials could be used as drug delivery systems. Acquire various features changing the shape and size of the particles depending on the material used and the method of production. Liposomes, solid lipid particles, micelles, cells, dendrimers, polymer-drug conjugates, hydrogels are systems studied in this regard.

Most anticancer drugs have low molecular weight and can easily penetrate through the cell wall. This reduces the half-life of drugs and causes damage to other cells as well as tumor cells. To reduce side effects, increased bioavailability of the drugs and provide specific targeting, various drug delivery and release systems in different sizes are being developed liposomes, solid lipid nanoparticles, polymeric micelles and self-induced polymeric aggregates comprising these micelles.

The aim of thesis is to synthesize of poly(MA-*alt*-NVP) first in different compositions through charge transfer complex (CTC) copolymerization between N-vinyl pyrrolidone (NVP) and maleic anhydrid (MA) by complex radical polymerization and nitroxide mediated polymerization (NMP) with is controlled polymerization technique, further steps involve copolymer characterization and chemical conjugation of 5-Flourourasil (5-FU) to this functional and water-soluble special copolymer system.

The complex formed between MA and NVP was investigated by using UV-Vis spectroscopy. Complex molar absorption coefficient ( $\epsilon^{AD}$ ), Complex equilibrium constant ( $K^{AD}$ ) and transition energy ( $E^{AD}$ ) is determined by using Scott equation. Compositions of the synthesized copolymers were determined by elemental analysis method.

Reactivity ratios of MA and NVP monomers in the copolymer were calculated by using elemental analysis data and Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) and Inverted Fineman-Ross (IFR) equations.

Obtained poly(MA-*alt*-NVP) and poly(MA-*alt*-NVP)-5-FU conjugate via charge transfer complex (CTC) polymerization and nitroxide mediated polymerization (NMP) system and structure properties are clarified by using ATR-FTIR, NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ve  $^{19}\text{F}$ ), XRD, Fluorescence, HR-Raman, UV-Vis, DSC, TGA and determination of molecular weight by using MALDI-TOF-MS methods.

Biological activity of poly(MA-*alt*-NVP) and poly(MA-*alt*-NVP)-5-FU conjugate were investigated via Saos-2 cells by using the dsDNA method to assess the number of viable cells and cell proliferation.

**Keywords:** Charge Transfer Complex (CTC), Nitroxide Mediated Polymerization (NMP), Poly(Maleic anhydride-*alt*-N-vinylpyrrolidone), Polymer-Drug Conjugation.



## TEŞEKKÜRLER

Tez çalışması boyunca bilgi ve tecrübesi ile yolumu aydınlatan, yanında her zaman çalışmaktan gurur duyduğum Değerli Hocam, Sayın Prof. Dr. Hatice Kaplan Can'a, Bilimsel ve laboratuvar olanaklarından faydalandığım sayın Prof. Dr. Ali Güner'e, ve tez çalışması boyunca bana her zaman anlayış gösteren değerli hocam Prof. Dr. Müşerref Önal'a

Uzman Dr. Serap Kavlak'a destek ve motivasyonu için,

Hücre kültür çalışmalarını yürüten Yrd. Doç. Dr. Cevat Erişken ve Ece Bayrak'a, MALDI-TOF-MS analizlerinde yardım ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Bekir Salih ve Dr. Mehmet Atakay'a,

Laboratuvar arkadaşlarım, Gizem Üner, Kübra Aydın'a,

Herşeyi onlara borçlu olduğum, bana benden çok inanarak her zaman yanımda olan, destekleyen ve sevgileri sayesinde kendimi bulduğum canım aileme,

Varlığı ile hayatıma anlam katan, anlayışını ve desteğini benden esirgemeyerek bu dönemde eksiklerimi benden önce tamamlayıp beni bütün kılan sevgili eşim Parisa Golshaei'e,

Tez kapsamındaki çalışmalarımı gerçekleştirmem için gerekli maddi desteği sağlayan TÜBİTAK'a ve Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Shahed ParviziKhosroshahi

Haziran, 2017

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜRLER .....	ix
TABLolar .....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALARI .....	xxv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1 Serbest Radikal Polimerizasyonu (SRP) .....	4
2.2. Kontrollü Radikal Polimerizasyonu (KRP) .....	4
2.2.1. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) .....	7
2.2.1.1. Monomerler .....	8
2.2.1.2. Başlatıcılar .....	8
2.2.1.3. Katalizörler .....	9
2.2.1.4. Ligandlar .....	9
2.2.1.5. ATRP'de Kullanılan Çözücü Sistemleri .....	9
2.2.1.6. ATRP'nin Dezavantajları .....	9
2.2.2. Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT) .....	10
2.2.2.1. Monomerler .....	10
2.2.2.2. Başlatıcılar .....	11
2.2.2.3. RAFT Ajanları .....	11
2.2.2.4. RAFT'de Kullanılan Çözücü Sistemleri .....	11
2.2.1.6. RAFT'ın Dezavantajları .....	11
2.2.3. Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon (NMP) .....	12
2.2.3.1. NMP Yönteminde Kullanılan Monomerler .....	13
2.2.3.2. Başlatıcılar .....	13
2.2.3.3. NMP'nin Dezavantajları .....	13

2.2.4. NMP Polimerizasyonu Tekniği.....	13
2.2.5 Yük Transfer Kompleks (CTC) Radikal Kopolimerizasyonu .....	22
2.2.6 Ardışık Kopolimerizasyon .....	25
2.2.7. Maleik Anhidrit Kopolimerleri .....	29
2.2.8.1. Poli(maleik anhidrit-ard-N-vinilpirolidon) .....	29
2.2.8. Kopolimer-İlaç Konjugasyonu.....	34
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	44
3.1. Kullanılan Maddeler.....	44
3.2 Sentez Yöntemleri .....	44
3.2.1. Kompleks Radikal Kopolimerizasyon Yöntemi ile Poli(MA-ard-NVP)'in Sentezlenmesi .....	44
3.2.2. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerin TEMPO varlığında Nitroksit Aracılığıyla Kontrollü Polimerizasyonu (NMP) .....	45
3.2.3.Kopolimer İlaç Konjugatlarının Sentezi .....	47
3.3. Analiz Yöntemleri .....	49
3.3.1. Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi Çalışmaları .....	49
3.3.2. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C ve <sup>19</sup> F)) Spektroskopisi Çalışmaları.....	49
3.3.3. HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları.....	50
3.3.4. X-ışınları kırınımı (XRD) Çalışmaları.....	50
3.3.5. Elementel Analiz Çalışmaları .....	50
3.3.6. Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi Çalışmaları .....	50
3.3.7. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Çalışmaları.....	51
3.3.8. Termogravimetrik Analizleri (TGA) Çalışmaları.....	51
3.5.9. Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Ölçümleri .....	51
3.5.10. Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) Çalışmaları .....	51
3.5.11. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları.....	52

3.5.12. Kopolimer-İlaç Konjugatının Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi .....	53
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	55
4.1. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu .....	55
4.1.1. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerizasyon Bileşiminin ve Reaktivlik Oranlarının Bulunması .....	58
4.1.2. Yük Transfer Kompleksi (CTC) Oluşumu .....	64
4.1.3. Kopolimerlerin ve Kopolimer-İlaç Konjugatının ATR-FTIR Analizi .....	69
4.1.4. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>1</sup> H-NMR Spektroskopisi Çalışmaları .....	73
4.1.5 Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>13</sup> C-NMR Spektroskopisi Çalışmaları .....	77
4.1.6. Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>19</sup> F-NMR Spektroskopisi Çalışmaları .....	81
4.1.7. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları .....	83
4.1.8. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının X-Işını Kırınımı (XRD) Çalışmaları .....	86
4.1.9. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ve Termogravimetrik Analiz (TGA) Çalışmaları .....	88
4.1.10. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Çalışmaları .....	93
4.1.11. Matriks-Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaştırılmalı-Uçuş zamanlı-Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ile Mol kütlesi Tayini .....	98
4.1.12. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları .....	100
4.2. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Yapı-Özelliklerinin İncelenmesi .....	101
4.2.1. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerlerin Bileşiminin ve Reaktivlik Oranlarının Bulunması .....	102
4.2.2. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının ATR-FTIR Analizleri .....	108

4.2.3. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>1</sup> H-NMR Spektroskopisi Çalışmaları .....	112
4.2.4. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerlerin ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>13</sup> C-NMR Spektroskopisi Çalışmaları.....	117
4.2.5. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>19</sup> F-NMR Spektroskopisi Çalışmaları .....	122
4.2.6. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının X-Işını Difraksiyonu (XRD) Çalışmaları.....	124
4.2.7. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları .....	126
4.2.8. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Çalışmaları .....	130
4.2.9. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Çalışmaları .....	136
4.2.10. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerin Matris-Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaştırılmalı-Uçuş Zamanlı-Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ile Mol Kütle Tayini.....	141
4.2.11. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları.....	143
4.3. Polimer ve Polimer-İlaç dsNA Yöntemi ile Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	144
5. TOPLU SONUÇLAR.....	148
KAYNAKLAR.....	153
ÖZGEÇMİŞ .....	173

## TABLULAR

Tablo 3.1. MA ve NVP monomerlerinin CTC mekanizması ile ardışık kopolimerizasyon kodları ve monomer besleme oranları. ....	44
Tablo 3.2. MA ve NVP monomerlerinin NMP yöntemi ile hazırlanan ardışık kopolimerizasyon kodları ve monomer besleme oranları. ....	46
Tablo 3.3. Kompleks radikal kopolimerizasyon ve NMP yöntemi ile hazırlanan kopolimer ilaç konjugasyonuna kodları ve karıştırma oranları. ....	49
Tablo 4.1. Beş farklı kompozisyondaki poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerine ait elementel analiz, polimerizasyon verimi ve kopolimerizasyon kompozisyonu. ....	58
Tablo 4.2. Farklı kompozisyona sahip poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerine ait Fineman-Ross, Kelen-Tüdös, Mayo-Lewis ve Inverted Fineman-Ross eşitliklerini kullanılması için hazırlanan büyüklükler. ....	60
Tablo 4.3. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerine ait reaktivite oranlarının Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliklerine göre hesaplaması .....	64
Tablo 4.4. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerine ait HR-Raman ve ATR-FTIR spektrumlarının karşılaştırması .....	85
Tablo 4.5. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin termoanalitik değerleri. ....	89
Tablo 4.6. CTC yöntemi ile farklı oranlarda sentezlenen ardışık kopolimerlerin ısısal davranışları.....	95
Tablo 4.7. Beş farklı kompozisyondaki NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerine ait elementel analiz, polimerizasyon verimi ve kopolimerizasyon kompozisyonu .....	102
Tablo 4.8. Farklı kompozisyona sahip NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerine ait Fineman-Ross, Kelen-Tüdös, Mayo-Lewis ve Inverted Fineman-Ross eşitliklerini kullanılması için hazırlanan büyüklükler.....	104



Tablo 4.9. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> - NVP) kopolimerine ait reaktivlik oranlarının Kelen-Tüdös (KT) , Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliklerine göre hesaplaması. ....	108
Tablo 4.10. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerine ait HR-Raman ve ATR-FTIR spektrumlarının karşılaştırması. ....	128
Tablo 4.11. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin termoanalitik değerleri. ....	132
Tablo 4.12. NMP yöntemi ile farklı oranlarda sentezlenen ardışık kopolimerlerin ısısal davranışları. ....	137

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Kontrollü/yaşayan polimerizasyona sahip molekülerin olası yapıları. ....	6
Şekil 2.2. ATRP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi.....	8
Şekil 2.3. RAFT polimerizasyon mekanizmasının gösterimi.....	10
Şekil 2.4. NMP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi. ....	12
Şekil 2.5. Kararlı bir nitroksit 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit ajanı (TEMPO). 13	
Şekil 2.6. NMP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi. ....	15
Şekil 2.7. NMP yönteminde kullanılan nitroksit ajanları. ....	17
Şekil 2.8. NMP polimerizasyonunda Hawker tarafından kullanılan akrilik $\alpha$ -hidrojen alkoksiamin başlatıcısı. ....	18
Şekil 2.9. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(St- <i>ard</i> -MA-blok-St) reaksiyon mekanizması. ....	19
Şekil 2.10. NMP yöntemi ile sentezlenen metil akrilatın reaksiyon mekanizması. 20	
Şekil 2.11. Alkoksiamin ile kararlı nitroksit ajanı arasında denge reaksiyonu. ....	21
Şekil 2.12. HOMO-LUMO arasında oluşan geçişin şematik olarak gösterimi Temel hal ( $s_0$ ), uyarılmış hal ( $s_1$ ). ....	23
Şekil 2.13. MA ve NVP monomer çiftleri arasındaki kompleksin oluşumu. ....	24
Şekil 2.14. MA ve NVP arasındaki, CTC reaksiyonu. ....	27
Şekil 2.15. NVP ve MA monomer çiftlerinin arasında oluşan kompleksin mekanizması. ....	28
Şekil 2.16. MA ve NVP arasında CTC mekanizması. ....	28
Şekil 2.17. Asit katalizörü varlığında MA kopolimerindeki anhidrit grupları esterleşme reaksiyonu .....	31
Şekil 2.18. SMA ve NSC arasında bağlanma mekanizması .....	32
Şekil 2.19. İlaçların hidrolizi ile vücut içerisinde asidik ya da bazik ortama ulaşan polimer-ilaç konjugantı. ....	32

Şekil 2.20. NVP'nin monomerinin radikalik polimerizasyon ile PVP'ye dönüşmesi. .....	33
Şekil 2.21. Biyomedikal polimerlerin uygulama alanlarında yayınlanan makale sayısının yıllara göre değerlendirilmesini gösteren grafik.....	38
Şekil 2.22. Polimer-ilaç etkileşiminin Ringsdorf modeli ile gösterimi.....	39
Şekil 2.23. Kanser terapi ajanı 5-florourasil (5-FU).....	42
Şekil 2.24. 5-Fu'nun $\pi$ -konjuge sistemini genişleterek, diketo (laktam)', enol-keto (laktim) formuna değiştirme önerilen mekanizması .....	42
Şekil 3.1. MA ve NVP monomerlerinin CTC mekanizması ile ardışık kopolimerizasyon mekanizması.....	45
Şekil 3.2. MA ve NVP monomerlerinin NMP yöntemi ile polimerizasyon mekanizması. ....	46
Şekil 3.3. 5-FU ile CTC yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması. ....	47
Şekil 3.4. 5-FU ile NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması. ....	48
Şekil 4.1. MA:NVP monomer besleme oranında 25 °C, <i>p</i> -dioksan içerisinde sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin kompozisyonu (MA:NVP): oranları 80:20, 60:40, 50:50, 40:60 ve 20:80).....	59
Şekil 4.2. Finemen-Ross (FR) eşitliği kullanılarak NVP (M <sub>1</sub> ) ve MA (M <sub>2</sub> ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.....	61
Şekil 4.3. Inverted Finemen-Ross (IFR) eşitliği kullanılarak NVP (M <sub>1</sub> ) ve MA (M <sub>2</sub> ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.....	62
Şekil 4.4. Mayo-Lewis (ML) eşitliği kullanılarak NVP (M <sub>1</sub> ) ve MA (M <sub>2</sub> ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.....	62
Şekil 4.5. Kelen-Tüdös (KT) eşitliği kullanılarak NVP (M <sub>1</sub> ) ve MA (M <sub>2</sub> ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.....	63
Şekil 4.6. MA ve NVP monomerlerin arasında oluşan CTC kompleksinin şematik olarak gösterimi.....	65

Şekil 4.7. MA-NVP monomer sisteminin oluşturduğu kompleksinin UV-Vis spektrumu ( $\lambda_{max}=242$ nm, çözücü; <i>p</i> -dioksan, sıcaklık; $25\pm 0.1$ °C monomer derişimleri; $[MA]/[NVP]=5\times 10^{-4}$ mol/L (Çözelti 1-9: karışma oranları 1:0; 1:1;1:3,1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:25 ve 0:1).....	66
Şekil 4.8. MA-NVP monomer sisteminin oluşturduğu CTC için Scott grafiği. ....	68
Şekil 4.9. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerine ait üst üste ATR-FTIR spektrumu. .	70
Şekil 4.10. a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), b) 5-FU ve c) kopolimer-ilaç konjugatına ait ATR-FTIR spektrumu. ....	71
Şekil 4.11. Kanser terapi ajanı 5-FU ile poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması. ....	72
Şekil 4.12. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerinin H (hidrojen) atomlarının işaretlenmiş şekli. ....	73
Şekil 4.13. MA:NVP=(a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	74
Şekil 4.14. 5-FU ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	75
Şekil 4.15. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU konjugatına ait protonların işaretlenmiş hali. 75	
Şekil 4.16. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu. ....	76
Şekil 4.17. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerinin C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş şekli. ....	77
Şekil 4.18. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	78
Şekil 4.19. 5-Florourasil (5-FU) ait C(Karbon) atomlarının işaretlenmiş yapısı.....	78
Şekil 4.20. 5-FU'ya ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu. 79	
Şekil 4.21. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU konjugatına ait karbon atomlarının işaretlenmiş hali.....	79

Şekil 4.22. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu. ....	80
Şekil 4.23. 5-FU'ya ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup> F-NMR spektrumu. ....	81
Şekil 4.24. Kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup> F-NMR spektrumu. ....	82
Şekil 4.25. 5-FU'ya ait <sup>19</sup> F-NMR spektroskopisinde flor atomunun hali. ....	82
Şekil 4.26. Kopolimer-ilaç konjugatına ait mekanizma. ....	83
Şekil 4.27. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de HR-Raman spektrumu. ....	84
Şekil 4.28. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de HR-Raman spektrumu. ....	86
Şekil 4.29. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin XRD spektrumu. ....	87
Şekil 4.30. 5-FU'ya ait XRD spektrumu. ....	87
Şekil 4.31. (a) kopolimer-ilaç konjugatı, (b) 5-FU ait XRD spektrumu. ....	88
Şekil 4.32. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de TGA termogramı. ....	89
Şekil 4.33. MA:NVP: (a) 50:50, (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait TGA termogramı. ....	90
Şekil 4.34. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği DSC termogramı. ....	91
Şekil 4.35. MA:NVP (a) 50:50 ve (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait DSC termogramı. ....	92

Şekil 4.36. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği SM-T eğrileri.....	93
Şekil 4.37. MA:NVP:(a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği Tan $\delta$ -t eğrileri. ....	94
Şekil 4.38. MA:NVP:(a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği LM-T eğrileri. ....	96
Şekil 4.39. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait SM-T eğrileri. ....	97
Şekil 4.40. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait LM-T eğrileri. ....	97
Şekil 4.41. (a) Poli(MA- <i>ard</i> -NVP), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait Tan $\delta$ -T Eğrileri. ....	98
Şekil 4.42. Poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50) kopolimerine ait MALDI-TOF-MS kütle spektroskopisi.....	99
Şekil 4.43. İlaç ve kopolimer-ilaç konjugatına ait Floresans spektrumu.....	100
Şekil 4.44. N-Vinil piroolidon monomer birimlerinin (NVP) monomer besleme ve kopolimer içersindeki oranı, 25 °C, <i>p</i> -dioksan içersinde. (NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin kompozisyonu (MA:NVP oranları 80:20, 60:40, 50:50, 40:60 ve 20:80).....	103
Şekil 4.45. Finemen-Ross (FR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.....	105
Şekil 4.46. Inverted Finemen-Ross (IFR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.....	105
Şekil 4.47. Mayo-Lewis (ML) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.....	106
Şekil 4.48. Kelen-Tüdös (KT) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.....	107



Şekil 4.49. MA:NVP: (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerine ait üst üste ATR-FTIR spektrumu. ....	109
Şekil 4.50. (a) NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50), (b) 5-FU, (c) kopolimer konjugatına ait ATR-FTIR spektrumu.....	110
Şekil 4.51. NMP yöntemini kullanarak kanser terapi ajanı 5-FU ile poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması. ....	111
Şekil 4.52. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerinin H- (Hidrojen) atomlarının işaretlenmiş hali. ....	112
Şekil 4.53. MA:NVP=(a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrum. ....	113
Şekil 4.54. MA:NVP= 50:50 monomer oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerine ait 25 °C de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	114
Şekil 4.55. 5-FU'ye ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu. ....	115
Şekil 4.56. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait protonların (H) ların işaretlenmiş hali.....	116
Şekil 4.57. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	116
Şekil 4.58. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerinin C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş hali. ....	117
Şekil 4.59. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu. .	118
Şekil 4.60. MA:NVP=50:50 monomer oranında NMP yöntemi ile sentezlenen Poli(MA- <i>ard</i> -NVP) kopolimere ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	119
Şekil 4.61. 5-FU'ye ait C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş hali. ....	119

Şekil 4.62. 5-FU'ye ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.	120
Şekil 4.63. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait karbon atomlarının işaretlenmiş hali.....	120
Şekil 4.64. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50) kopolimeri,(b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu. ....	121
Şekil 4.65. 5-FU'ye ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup> F-NMR spektrumu. ....	122
Şekil 4.66. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de <i>d</i> -DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup> F-NMR spektrumu.....	123
Şekil 4.67. 5-Florourasil (5-FU) ait <sup>19</sup> F-NMR spektroskopisinde Flor atomunun işaretlenmiş yapısı.....	123
Şekil 4.68. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait <sup>19</sup> F-NMR'da Flor atomunun işaretlenmiş hali.....	124
Şekil 4.69. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin XRD spektrumu. ....	125
Şekil 4.70. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50) kopolimeri ve (b) kopolimer-ilaç konjugatına ait XRD spektrumu.....	126
Şekil 4.71. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin HR-Raman spektrumu.....	127
Şekil 4.72. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50) kopolimeri, (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait alınan HR-Raman spektrumu.....	129
Şekil 4.73. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin TGA termogramı.....	131
Şekil 4.74. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50) (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait TGA termogramı. ....	133

Şekil 4.75. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin DSC termogramı. ....	134
Şekil 4.76. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait DSC termogramı. ...	135
Şekil 4.77. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği SM-T eğrileri.....	136
Şekil 4.78. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği LM-T eğrileri. ....	137
Şekil 4.79. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği Tan $\delta$ -T Eğrileri. ....	138
Şekil 4.80. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer- ilaç konjugatına ait SM-T eğrileri.....	139
Şekil 4.81. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)-5-FU (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait Tan $\delta$ -T eğrileri. ...	140
Şekil 4.82. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP)- 5-FU (a) poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait LM-T eğrileri. ....	141
Şekil 4.83. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) (50:50) kopolimerine ait MALDI-TOF-MS spektroskopisi.....	144
Şekil 4.84. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait Floresans spektrumu.....	144
Şekil 4.85. Saos-2 hücrelerinin farklı konsantrasyonda CTC yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) ve polimer-ilaç konjugatı ve bu yapıların etkileşimlerine bağlı olarak hücrelerin 7. günde görülen hücre üreme diagramları ve kontrol grubuyla aralarındaki ilişkisi.....	144
Şekil 4.86. Saos-2 hücrelerinin farklı konsantrasyonda NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA- <i>ard</i> -NVP) ve polimer-ilaç konjugatı ve bu yapıların etkileşimlerine bağlı	

olarak hücrelerin 7. günde görülen hücre üreme diagramları ve kontrol grubuyla aralarındaki ilişkisi ..... 144

## SİMGELER VE KISALTMALARI

### Simgeler

mg	Miligram
cm	Santimetre
mL	Mililitre
kV	Kilovolt
nm	Nanometre
mA	Miliamper
°C	Santigrat
Å	Angstrom
dk	Dakika

### Kısaltmalar

ATR-FTIR	Fourier-Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
XRD	X-Işını Kırınımı
TGA	Termogravimetrik Analiz
DMA	Dinamik Mekanik Analiz
DSC	Diferansiyel Tarama Kalorimetresi
MA	Maleik Anhidrit
NVP	N-vinil piroolidon
BPO	Benzoil Peroksit
Poli(MA- <i>ard</i> -NVP)	Poli(Maleik Anhidrit- <i>ard</i> -N-vinil piroolidon)
KT	Kelen-Tüdös
ML	Mayo-Lewis
IFR	Inverted Finemen-Ross
FR	Finemen-Ross
NMP	Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit
TEA	Trietilamin
<i>ard</i>	Ardışık

# 1. GİRİŞ

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla temas ederler [1]. Biyomalzemeler, gün geçtikçe önemi artan ve uygulama alanı biyouyumlu, güvenilir, etkin, doğal ya da yapay kökenli, organ, doku ya da vücut işlevlerini iyileştiren, artıran veya onların yerini tutan maddelerdir [2].

Malzeme bilimi ve biyoteknolojisindeki gelişmeler, birbirini besleyerek; kontrollü salım sistemleri, antitümör ve antiviral aktiviteye sahip fonksiyonel polimerlerin tasarımında ve üretiminde yeni teknikler ve malzemeler ortaya çıkarmaktadır [3]. Bileşimi, yapısı ve fonksiyonel olarak kullanılması amacıyla iyi tanımlanmış polimer sistemlerinin tasarımı ve sentezi polimer kimyası alanında oldukça yoğun ilgi görmektedir. Polimerik fonksiyonel grupların varlığı; gerek kendilerinin biyolojik aktif olmaları gerekse etkileştikleri maddeler ile aktiflik/etkinliklerinin ortaya çıkarılması açısından çok önemli bir parametredir [4].

Kontrollü salım sistemleri özellikle son yıllarda birçok alanda kullanılmaktadır. Bu alanların başlıcaları; tıp, ilaç sektörü, kozmetik ve çevredir. Bu sistemler, aktif maddenin tercih edilen koşul ve hızda salımını mümkün kılmaktadır [5]. Uygulanacak yer ve amaca göre kontrollü salım sistemleri, seçilecek olan doğal veya sentez yoluyla elde edilen polimerleri kullanılmaktadır. Seçilmiş aktif maddeler uygun olan polimerlerle etkileşimi sağlanıp, bu maddelerin çeşitli yöntemlerle polimer üzerinden salımları kontrol edilebilmektedir [6]. Polimerlerin seçiminde, sentezlenen polimerlerin uygulama alanlarını, polimeri iyi karakterize etmek ve yapılan salım işlemlerini iyi belirlemek gerekir.

Seçilmiş monomerlerin yapıya bağlı olarak, polimer zincir yapısı (polarite, hidrofilitite, hidrofobisite, çözünürlük profilleri, biyolojik sistemlerde farklı fonksiyonel gruplarla etkileşme dinamikleri ve modifikasyonları) kontrolü ve yorumlanması ilgi çekmektedir [7]. Monomerlerin seçimine bağlı olarak oluşan kopolimerlerin polaritesi, karboksilik asit yoğunluğu, hidrofilik ve hidrofobik özellikleri, yüzeyi ve zincir sertliği ayarlanabilmektedir.

Düzenli makromoleküler yapıya sahip, fizyolojik ortamda iyi çözünebilme ve karışabilme özellikleri olan, antitümör özelliklerine sahip polimerlerin; düşük mol



kütlesi ve toksikoloji etkileri, anyonik yapıların yüksek yoğunluğu ve monomer dizilimleri, biyopolimerlerle polielektrolit komplekslerin oluşumunda üstün rekabet gücü, daha uzun süreli etkinliği ve metabolizma prosesine uyumluluğu gibi önemli özellikleri sıralanabilir. Fizyolojik aktif polimerlerin sentezlenmeleri ve onlara fizyolojik aktif özelliğini kazandıran modifikasyonları polimerlerin antitümör aktivitesinde rol oynayan özelliklerinin araştırılması ve geliştirilmesine önemli katkılar sağlamaktadır.

Bu çalışmanın genel amacı, günümüz kanser tedavi protokollerinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılan ve kontrollü salım çalışmaları yapılan 5-Florourasil (5-FU) aktif maddesinin, suda çözünebilen makromoleküler bir taşıyıcıda incelenmesidir. İlacın yan etkilerini azaltmak ve biyoyararlanımını artırmak amacıyla polimer-ilaç konjugasyonu yapılması amacıyla poli(MA-*ard*-NVP) polimeri seçilmiştir. Kopolimerizasyon boyunca seçilen komonomer çiftine'de bağlı olarak (elektron alıcı-elektron verici) oluşan yük kompleksleri ardışık kopolimerlerin sentezini mümkün kılmaktadır [8]. Klasik radikalik polimerizasyondan farklı olarak ardışık kopolimerlerin elde edilmesini sağlayan bu kompleks radikal kopolimerizasyonu ile yeni tipteki polianyonik kopolimerin elde edilmesi mümkün olmaktadır.

Ardışık bir yapıya sahip olan ve sentezi yük transfer kompleksi üzerinden yürüyen bu polimer suda çözünürlüğü ve polianyonik karakteri nedeniyle fizyolojik sistemlerde çalışmaya imkan tanımaktadır [9]. Polimer üzerinde bulunan anhidrit gruplarının fonksiyonelliği, polimerin esterleşme ve amidasyon gibi reaksiyonlarla modifikasyonunu sağlayabilir. Zincir üzerindeki anhidrit gruplarının kolaylıkla hidroliz olması ve bu grupların kimyasal modifikasyonu kopolimer-ilaç modifikasyonunda önemli avantaj sağlamaktadır [9]. Kopolimer üzerinde bulunan monomerlerin kopolimerizasyon içerisinde bulunmaları ve miktarını kontrol etmek amacıyla kontrollü polimerizasyon tekniklerinden Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon (NMP) yöntemi kullanılmıştır.

Bu tezin kapsamında; suda çözünebilen, fonksiyonel gruplar içeren kopolimerin antitümörel özelliğinden faydalanarak, kompleks radikal kopolimerizasyon yöntemi kullanarak ardışık yapıda farklı kompozisyonlarda kopolimerler hazırlanmıştır. Sentez yöntemi ve monomerler benzer tutularak nitroksit varlığında kontrollü polimerizasyon yöntemi ile farklı kompozisyonlarda poli(MA-*ard*-NVP) elde edilmiştir.

Yapı ve özelliklerini aydınlatmak amacıyla hazırlanan kopolimerlerin spektroskopik (UV-vis, ATR-FTIR, XRD, HR-Raman, NMR, Floresans), elementel analiz, XRD ve termal gravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetrik (DSC) yöntemleri, dinamik mekanik özellikleri (DMA) için analizleri yapılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen kopolimerin molekül ağırlığını tayin edilmesi amacıyla Matris ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Kütle Spektroskopi (MALDI-TOF-MS) cihazı kullanılmıştır.

Antitümör ve biyolojik aktiviteye sahip poli(MA-*ard*-NVP) ve poli(MA-*ard*-NVP)-5FU konjugatları Saos-2 hücreleri üzerinde canlı hücre sayısının ve hücre çoğalmasının değerlendirilmesi amacıyla dsDNA yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Serbest Radikal Polimerizasyonu (SRP)

Katılma polimerizasyonun en önemli tiplerinden biri çiftleşmemiş elektron içeren elektriksel olarak nötral serbest radikallerle başlatılan polimerizasyondur. Bu tip polimerizasyonda doymamış monomerler tipik zincir reaksiyonu verirler. Serbest radikal polimerizasyonu 3 ana basamaktan oluşur; 1. Başlama, 2. Büyüme, 3. Sonlanma. Başlama basamağı farklı yöntemlerle ve reaktif radikaller tarafından oluşan basamaktır. Büyüme, monomer ile oluşan radikaller etkileşerek büyüyen radikal zincirlerin oluştuğu bir basamaktır. Sonlanma ise büyüyen polimer zincirlerinin aktivitesini kaybederek ölü polimer haline geçtiği basamaktan ibarettir. Deneysel sistem kurma, vinil/viniliden ve birçok monomerin bu yöntem ile polimerleştirilebilmesi ve bu polimerizasyonların ılımlı koşullarda yapılabilmesi bu sistemin en önemli avantajlarından. Ancak SRP tekniğinin en önemli dezavantajı ise polimer mimarisinin denetlenmemesi, geniş mol kütlesi dağılımına sahip polimer üretmesi; yani polimerizasyon sıcaklığı, çözücü, monomer, viskozite radikal kaynakları gibi birçok parametrenin molekül ağırlığına etkisinden dolayı molekül ağırlığının önceden tahmin edilebilmesinin mümkün olmamasıdır.

Son yıllarda radikal polimerizasyonun kontrollü ve polimerizasyon tekniklerinin gelişmesi, iyi kontrol edilebilen işlemlerle, dar mol kütlesi dağılımı polimerlerin sentezlenmesine imkân tanımaktadır. Kontrollü radikal polimerizasyonu (KRP) teknikleri ile moleküler mimarisi denetlenebilen, mol kütlesi kontrol edilebilen ve düşük mol kütlesi dağılımına (polidispersite) sahip polimerlerin üretimi özellikle polimer-ilaç çalışmalarında klasik yöntemlerle sentezlenen yapıların dezavantajlarını ortadan kaldıracaktır.

### 2.2. Kontrollü Radikal Polimerizasyonu (KRP)

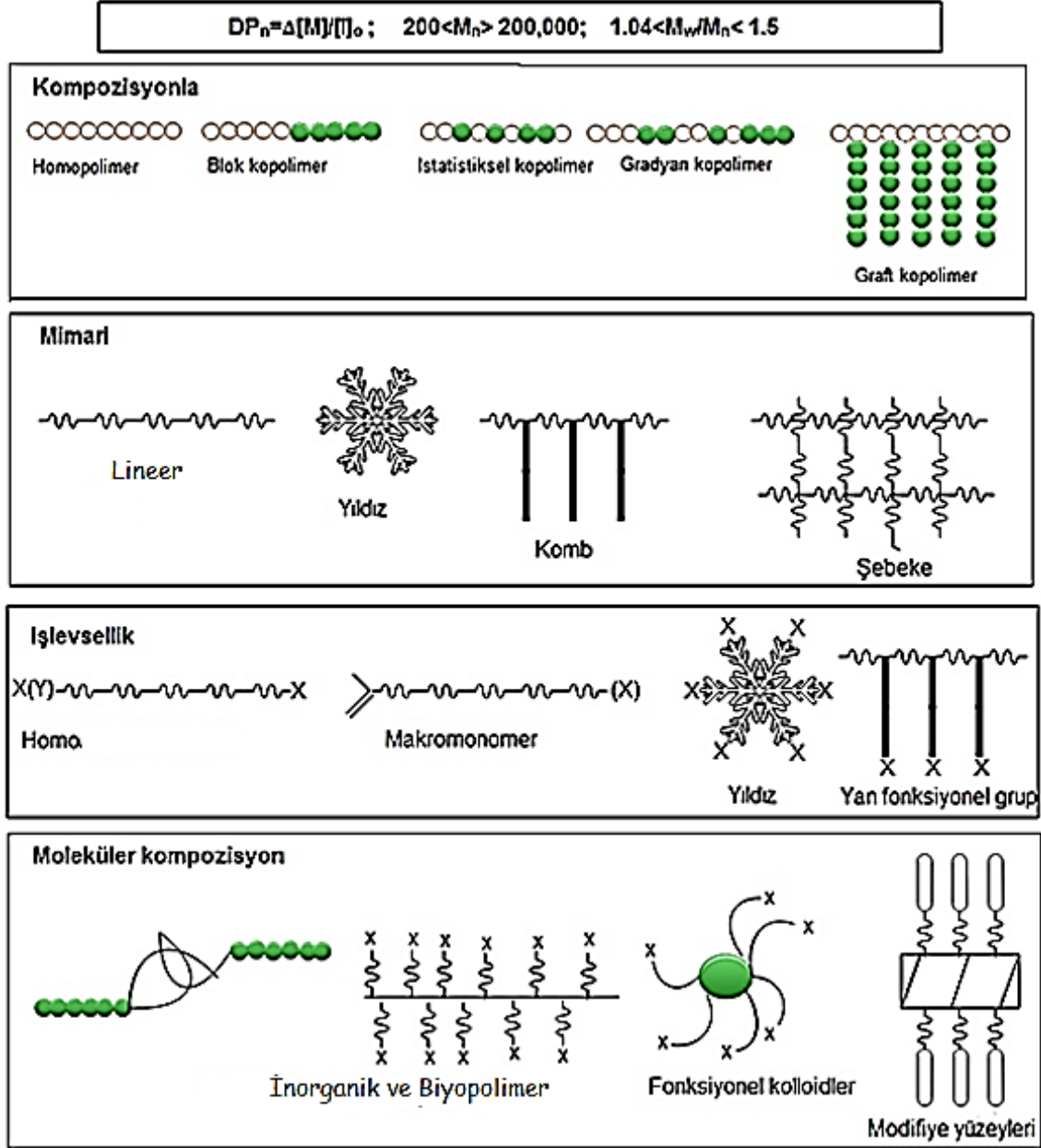
1956 yılında ilk kez Szwarc tarafından yayınlanan ilk makale kontrollü polimerizasyon tekniği alanındaki en önemli çalışma olarak kabul edilmiştir [10]. Bu çalışmada; ilk kez “yaşayan polimerler” terimi kullanmış olsa da, günümüze kadar yaşayan polimerler başlığı altında çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu teknikler, klasik radikal polimerizasyonun yetersizliklerini gidererek ve radikal polimerizasyonun bazı özellikleride alarak çeşitli monomerlerin

polimerleştirilmesine ve polimerizasyonun kontrolüne imkan sağlamaktadır. KRP tekniklerinin bu önemli özelliği mekanistik olarak incelendiğinde başlama basamağının hızının büyüme basamağının hızından daha büyük olması gerekmektedir [10, 11]. Polimerizasyon, monomerin tamamı tükeninceye kadar devam eder. Ortama daha fazla monomer eklenmesiyle polimerizasyon ilerleyecektir. Polimerizasyon tekniğinin bu üstün özelliği, kopolimer sentezi için de önemli ve etkili bir yoldur. Ayrıca sentezlenen polimerin mol kütlesi önceden tahmin edilebilmekte ve mol kütlesi dağılımı oldukça dar polimerlerin sentezine olanak sağlamaktadır.

Büyüyen radikaller ile uyuyan türler arasındaki denge tüm kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyonu tekniklerinin önemli bir özelliğidir. Kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyonunu uyuyan türlerin yapısına ve büyüyen radikaller ile uyuyan türler arasındaki dengeye göre birçok gruba ayırmak mümkündür. Ancak Kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyonu mekanizmasına göre sınıflandırmak, kullanılan reaktantların derişimleri, polimerin molekül ağırlığı, heterojenlik indeksi ve polimerizasyon hızı arasında ilişki kurulması açısından daha uygundur. KRP yöntemleri yaşayan polimerizasyon sistemlerini taklit eder. Ayrıca KRP hem yaşayan ve hem serbest radikal polimerizasyon sistemlerinin özelliklerini taşır.

Tipik olarak zincir transferlerinin ve zincir sonlanma reaksiyonlarının yokluğunda ilerleyen polimerizasyonlarda, yaşayan polimerizasyon yöntemleri uygulanabilmektedir [12]. Yaşayan polimerizasyon üzerinde çok sayıda akademik ve endüstriyel araştırma anyonik, katyonik, koordinasyon ve halka açılması polimerizasyonu gibi farklı tekniklerde kullanımı konusunda çalışmalar yoğunlaşmıştır (Şekil 2.1). Radikalik proses, fonksiyonel gruplar açısından ve polimerlerin imal edilmeleri açısından akademiye ve endüstriye çok uygun bir teknik olduğundan, kontrollü yaşayan polimerizasyon tekniklerinin gelişimi, polimer kimyası açısından uzun zamandan beri gaye edinilmiş bir konu olmuştur. Son birkaç yılda yeni KRP yöntemlerinin anlaşılmasında ve gelişiminde önemli ilerlemeler yaşanmıştır [13]. Tüm bu yöntemler, az miktardaki büyüyen serbest radikaller ile çok miktardaki inaktif türler arasında hızlı bir dinamik dengenin kurulması temeline dayanır. Bu inaktif türler, Atom Transfer Radikal Polimerizasyonunda (ATRP) veya dejeneratif transferde (DT) alkil halojenürler, Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT) tiyoesterler, Nitroksit aracılığıyla

Polimerizasyonda (NMP) veya kararlı serbest radikal polimerizasyonunda (SFRP) alkoksiaminler ve organometalik türler olmuştur [14].



Şekil 2.1. Kontrollü/yaşayan polimerizasyona sahip molekülerin olası yapıları.

Serbest radikaller, termal prosesler sonucu (NMP, SFRP), katalizlenmiş bir reaksiyon (ATRP) ile veya inaktif türler ile dejeneratif değişim prosesi (DT, RAFT) yöntemiyle imal edilebilirler. Böylece, sonlanmaların ortaya çıkmasına rağmen uygun koşullarda sonlanmanın katkısı çok düşük olacaktır [12] ve toplam zincir

sayısının yüzde birkaçını geçmemektedir. Bu radikalik polimerizasyonlar, yaşayan veya kontrollü sistemlere benzer bir davranış sergilemektedir [15]. Günümüzde kontrollü polimerizasyon teknikleri (RAFT, ATRP, NMP) kullanılarak ve bu tekniklerden sentezlenen blok, yıldız, dallanmış ve aşılınmış polimerler, polimer-ilaç konjugatların mimarileri için arzu edildiği gibi kullanılmaktadırlar [16]. Kontrollü Radikal Polimerizasyonu teknikleri ile polimer-peptit ilaç konjugatları, polimer-protein ilaç konjugatları, polimer-küçük molekül ilaç hazırlanması mümkün olmuştur [17].

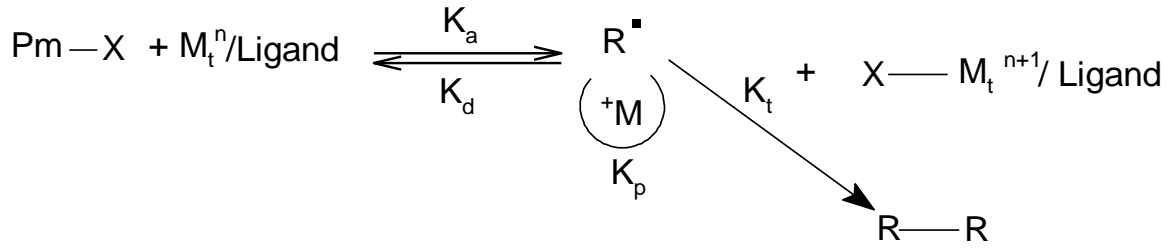
Polimerik konjugatlar genellikle ilaçların etkinliğinin, çözünürlüğünün artması ve toksisitesinin bastırılmasına yardımcı olur. Polimer-ilaç konjugasyon tekniği, yaygın olarak ilaç dağıtım ve doku mühendisliği uygulamaları için kullanılmış ve bunlardan bazıları ise şimdiden klinik çalışmalarda kullanılmaktadır [18].

### **2.2.1. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP)**

İlk olarak Matyjaszewski ve Sowamoto araştırma grupları tarafından 1995 yılında eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyon bahsedilen iki şahıs tarafından farklı isimler almıştır. Matyjaszewski Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) adını verirken, Sowamoto bu reaksiyona Metal Kataliz Yaşayan Radikal Polimerizasyon adını vermiştir [19].

ATRP'nin başlangıcı organik reaksiyonlarda başarılı bir şekilde kullanılmış olan atom transfer radikal ilavesine dayanmaktadır ve reaksiyon halojen (X) transferi ile polimerin pasif durumundan (P-X) aktif durumuna (P) geçmesi sırasında yükseltgenen geçiş metal katalizörünün (Mt) tersinir yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları üzerinden yürür. ATRP; bütün zincirlerin eş zamanlı olarak büyümesine izin veren, uyuyan ve aktif kısımlar arasındaki dinamik dengeye dayanan bir yöntemdir (Şekil 2.2).

Çoğunlukla yığın (kütle) ve susuz ortamda uygulanmaktadır ve fonksiyonel gruplara belirgin bir biçimde tolerans göstermektedir.



Şekil 2.2. ATRP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi [19].

ATRP'nin diğer yöntemlere göre avantajı; başlatıcının ve katalizör kompleksinin üzerinde büyük ölçüde seçim serbestliği sağlamasıdır. Oldukça aktif katalizör, geçiş metalinin düşük düzeylerde seçilmesini sağlayabilir [20]. Ayrıca geleneksel SRP reaksiyonlarında, fonksiyonel monomerler ve safsızlıklara duyarlı olması sonlanma reaksiyonlarında sorun olmasına alternatif olarak, polimerizasyon kontrolünün bir geçiş metal kompleksinin kullanımıyla gerçekleştirilmesi nedeniyle fonksiyonel gruba toleranslı ve geniş bir yelpazedeki monomerlerin polimerleşmesine olanak sağlayan ATRP tekniğidir. Bu teknikle; uç grup fonksiyoneli korunurken; polimer morfolojisinde elde edilebilmektedir [12].

### 2.2.1.1. Monomerler

ATRP büyüyen radikalleri kararlı tutabilen gruplara sahip monomerler ile yürümektedir. Bu polimerizasyon sisteminde, en çok tercih edilen monomerler fonksiyonel gruplar içeren metakrilatlar, sübtitüe stirenler, akrilonitril monomerler ve diğer fonksiyonel monomerlerdir [21]. Ayrıca halka açılma polimerizasyonu tekniğinde de başarılı olarak kullanılmaktadır [22]. Yüksek kararsızlıkta veya reaktif gruplara sahip epoksitler, laktonlar ve dienler gibi monomerde ATRP ile polimerleştirilmektedir.

### 2.2.1.2. Başlatıcılar

ATRP'nin sisteminde başlatıcılar genelde halojenler (Br ve Cl) kullanılır. Bu sistemler; halojenli alkanlar, benzilik halojenürler, R-haloester, R-haloketon, R-halonitril, sülfonil halojenürler olarak verilebilir [23]. Bu tip başlatıcılar; oluşan radikali

kararlı tutabilen karbonil, siyano veya fenil gibi fonksiyonel gruplara sahip olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Bu grupların yanısıra kullanılan başlatıcı sahip epoksit, hidroksil, siyano ve lakton gibi fonksiyonel gruplar yer alabilmektedir.

### **2.2.1.3. Katalizörler**

ATRP'de katalizör olarak kullanılan metaller bakır (Cu), demir (Fe) ve Rutenyum (Ru) olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca kobalt (Co), paladyum (Pd), nikel (Ni), rodyum (Rh), renyum (Re) gibi geçiş metalleri de katalizör sistemlerinde kullanılmaktadır [24].

### **2.2.1.4. Ligandlar**

Ligandların kullanımı ATRP polimerizasyon tekniğinde önem taşımaktadır. Bu ise şu sebeplerle açıklanabilmektedir. Ligandlar; sterik ve elektronik etkiler ile seçiciliği kontrol edebilmektedirler. Organik reaksiyon ortamındaki ligand, kullanılan metalin çözünmesini sağlar. Diğer önemli bir etki ise; elektronik etkisi ile oluşan son metal kompleksinin yükseltgenme-indirgenme kimyasını etkilemektedir [25]. Azot içeren ligandlar iki, üç veya dört azotlu olabilirler [26]. İki tane azot içeren bipyridin türevi ligandlar iki molekülleri ile kompleks yaparken, diğer ligandlar tek molekülleri ile kompleks oluştururlar [27]. Sıklıkla kullanılan en önemli Cu merkezli metal-ligand kompleksleri ise Cu/bipyridin (bpy) ve Cu/PMDETA kompleks sistemleridir [28]. ATRP için en etkili ligandlar 2,2 bipyridin türevleri ve bazı alifatik poliaminlerdir.

### **2.2.1.5. ATRP'de Kullanılan Çözücü Sistemleri**

ATRP'de kullanılan çözücüler zincir transferinde inert, katalizörle bağlanmamalı ve ligand katalizör sistemini çözmemelidir. Toluen, difenil eter, aseton, benzen, etil asetat, ksilen, dimetilformamit ve çeşitli alkoller bu sistemde kullanılmaktadır [21].

### **2.2.1.6. ATRP'nin Dezavantajları**

ATRP'nin en önemli dezavantajı, katalizörün reaksiyon sisteminden uzaklaştırmasıdır. Ayrıca asidik uçların ATRP reaksiyonuna girmeden önce

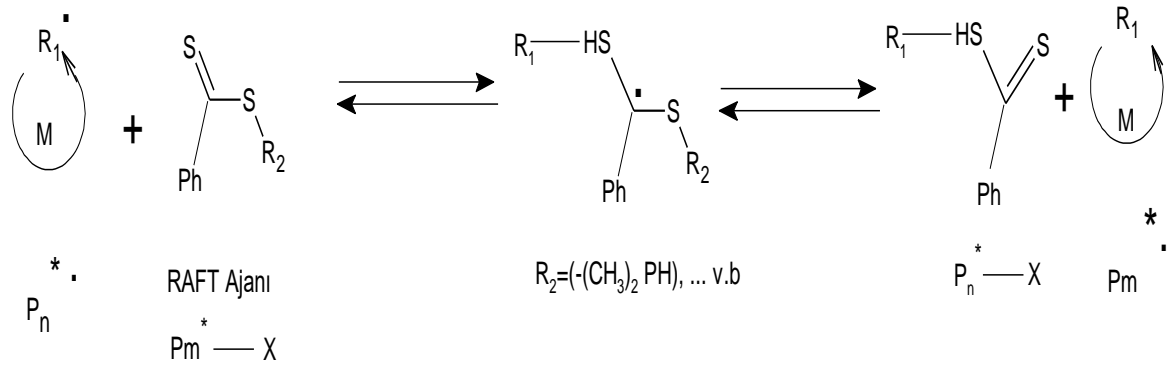


kapatılması gerekmektedir. Akrilamit ve asidik monomerlerle olan polimerizasyon reaksiyonları ATRP için uygun olmayan monomer grubundadır. Bunların yanı sıra oksijene olan yüksek duyarlılık ATRP reaksiyonlarının dezavantajı olarak kabul edilmektedir [29].

### 2.2.2. Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT)

Tersinir katılma-ayrışma zincir transfer polimerizasyonu, Rizzardo tarafından 1998 yılında keşfedilmiştir [30]. Bu polimerizasyon reaksiyonları, bir polimer zincirinden diğerine bir radikal merkezin transferi yoluyla birimlere ayrılma ve eklenme (katılma) gerçekleşmektedir.

Radikal transferi esnasında, ara ürün ile monomerler arasında reaksiyon yoktur. Yüksek konsantrasyon da yapıya eklenenlerden dolayı çoğalma türleri aktif radikal konsantrasyonda bir artış göstermektedir. Sonuçta, sonlanma reaksiyonları önemli ölçüde azalmıştır. Şekil 2.3'de RAFT'ın genel mekanizması gösterilmektedir [30].



Şekil 2.3. RAFT polimerizasyon mekanizmasının gösterimi [31].

#### 2.2.2.1. Monomerler

Çoğu monomerler ile kullanım imkânından dolayı RAFT metodu diğer kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyon metotları arasında öneme ve geniş kullanıma sahiptir. RAFT ile polimerize edilen monomerlere örnek olarak stiren ve türevleri, akrilat, akrilamit, metakrilat, metakrilamit, bütadien, vinil asetat ve vinilpirolidon gibi birçok vinil monomerler verilebilir. Ayrıca RAFT tekniği ile serbest

radikal polimerizasyon yöntemi ile polimerleştirilebilen diğer çeşitli monomerler kullanılabilir [32].

#### **2.2.2.2. Başlatıcılar**

Serbest radikal başlatıcılar, RAFT tekniğinde; tersinir zincir transferinde yeni radikal üretimi olmaması nedeniyle ve serbest radikalin oluşturduğu kaynaklardan kullanılmaktadır. Azobisisobutironitril (AIBN) ve benzoil peroksit (BPO) ve bezeri diğer radikalik başlatıcılar kullanılabilir [30].

#### **2.2.2.3. RAFT Ajanları**

RAFT'da uygun bir RAFT ajanı seçilerek radikalik polimerizasyon ortamına ilave edilerek önceden belirlenmiş zincir uzunluğunda ve dar bir polidispersiteye sahip polimer elde edilebilir. RAFT ajanı olarak genellikle trikarbonitril bileşikleri, disülfürler veya diğer bileşiklerin (örneğin iyodinler) inert radikaller veren ürünleri kullanılır [32-34].

#### **2.2.2.4. RAFT'de Kullanılan Çözücü Sistemleri**

RAFT polimerizasyonunda çözücü etkisi azdır, farklı polimerizasyon tekniklerinde (emülsiyon, süspansiyon vb.) RAFT polimerizasyonu çalışılmasına imkân tanır [35].

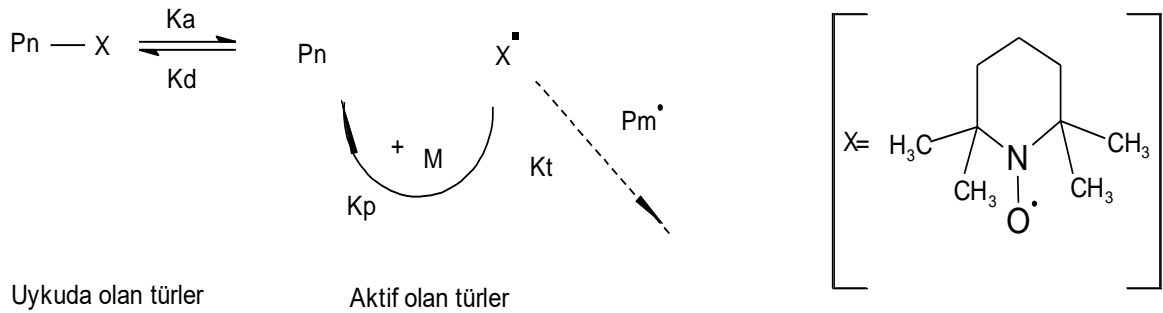
#### **2.2.1.6. RAFT'ın Dezavantajları**

RAFT ajanı ticari ve akademik çalışmalar boyutta sınırlı sayıda sentezlenmektedir. Her polimerizasyon ortamı ve monomer sistemi için polimerizasyon öncesi uygun bir RAFT ajanının sentezlenmesi gerekmektedir. RAFT ajanları; kolay ayrılan sülfür içeren bileşikler olması nedeniyle hoş olmayan kokusu, RAFT tekniğinin en önemli dezavantajıdır. Ayrıca tiokarbonitril içeren ürünlerde renk oluşumu gözlenir [36]. RAFT polimerizasyonu tamamlandığında, polimer zincirlerin çoğunun uç grubunun tio karbonil içermektedir. Bu uç gruplar, baz veya oksidantlarla hidroliz edilerek uzaklaştırılabilir. Uç grupların uzaklaştırması için

kullanılan başka yöntem ise ısıtmadır [37]. Bu işlemler RAFT polimerizasyonuna ait dezavantajlar olarak verilmektedir.

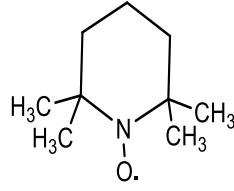
### 2.2.3. Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon (NMP)

Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyon (NMP) veya kararlı serbest radikal polimerizasyonu (SFRP) yöntemi Rizzardo tarafından çalışılmıştır [38]. NMP yönteminde stiren ve akrilat monomerlerde kullanılan nitroksitler yada alkoksiaminler çok etkin değildir ve homoliz için nispeten yüksek reaksiyon sıcaklıklarının kullanılması gerekmektedir. İlk başarılı NMP reaksiyonu tetrametil izoindolin nitroksitten analoğu tetraetil izoindolin nitroksit radikal tutucusu kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışma [32, 39] nitroksitlerin genel yapısını ve NMP içinde özel örneklerin kullanılmasını kapsamaktadır. NMP veya SFRP kararlı bir nitroksit radikali ile sağlanır. Polimerizasyon sisteminde nitroksit radikali, çoğalmakta olan diğer radikaller ile bağ oluşturur. Oluşan bu bağ radikal derişimini azalttığı için, sonlanma reaksiyonlarının oranını bir radikal tutucu gibi düşürür. Bu durum NMP'nin yaşayan karakterinin göstergesidir. NMP'ye ait genel reaksiyon mekanizması Şekil 2.4'de görülmektedir.



Şekil 2.4. NMP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi [38].

NMP'ye ait genel reaksiyon mekanizması ve aşağıdaki kararlı bir nitroksit 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) Şekil 2.5'de görülmektedir.



Şekil 2.5. Kararlı bir nitroksit 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit ajanı (TEMPO).

### 2.2.3.1. NMP Yönteminde Kullanılan Monomerler

TEMPO türü nitroksitler (piperidin yapıda olanlar), genelde stiren türevi monomerlerin polimerleştirilmesinde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak; nitroksit vasıtasıyla polimerizasyonun uygulaması gereken sıcaklıkların birçoğu akrilat türevi monomerlerin kaynama noktasından büyük olması sebebiyle NMP metodu akrilat türevlerinde etkin olarak kullanılmamaktadır. Amino, karboksilik asit gibi farklı fonksiyonel gruplar NMP yöntemi ile uyumlu olarak kullanılabilir [40].

### 2.2.3.2. Başlatıcılar

NMP yöntemi ile polimer sentezi; klasik radikal unimoleküler veya bimoleküler başlatıcılar ile yapılabilmektedir. Bimoleküler sistemde klasik radikal başlatıcıların (BPO, AIBN) yanısıra 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) gibi bir nitroksit kullanılmaktadır.

### 2.2.3.3. NMP'nin Dezavantajları

NMP'de en önemli sınırlaması monomerlerin seçimliliğidir. Bu sentez yöntemi akrilat ve stiren türevi monomerler için elverişlidir ve bu monomerlerden diblok yada triblok kopolimerler elde edilebilmektedir.

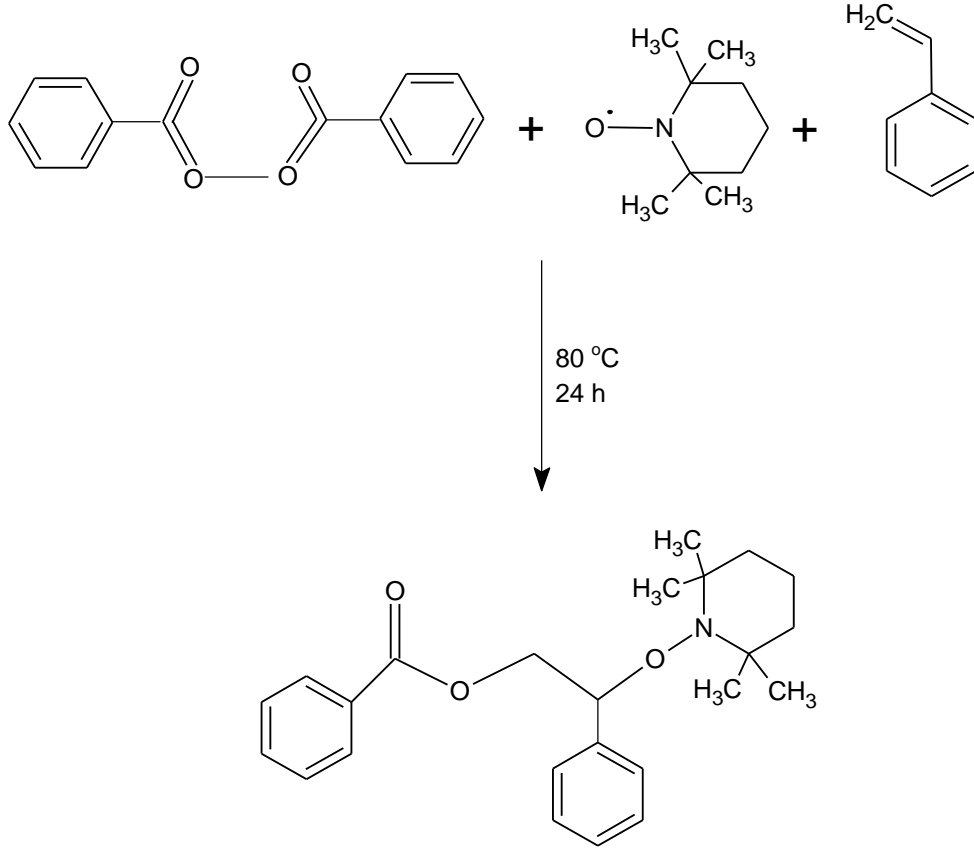
### 2.2.4. NMP Polimerizasyonu Tekniği

NMP yöntemi 1994 yılından bu yana farklı araştırmacıların kullandığı gerek sistem gerekse monomer bazında hala yeniliklere açık ve çalışılmaya değer bir yöntemdir. NMP diğer bütün kontrollü polimerizasyon yöntemlerinden oldukça etkindir [41]. Nitroksit aracılığıyla radikal polimerizasyon'da en çok ve yaygın

kullanılan başlatıcı TEMPO'dur. Sıcaklık etkisiyle kopabilen bu uç grup büyümekte olan zincirin sonuna tekrar eklenir ve bu aktivasyon ve deaktivasyon polimerleşmenin kontrollü olmasını sağlamaktadır [9, 42]. Başka bir deyişle NMP yönteminde, düşük sıcaklıkta kararlı nitroksit radikali büyüyen polimer zincirinin sonuna kovalent bağ ile bağlanarak polimerleşmenin sonlanmasına sebep olur ve böylece polimer zincirinin son ünitesinde nitroksit grubu meydana gelir [29]. Bu uç grup sisteme "yaşayan" veya "canlı" özelliği getirmektedir. Polimerin uç grubunda bulunan alkoksi aminin (-C-ON) bağı 100–130 °C gibi yüksek sıcaklıklarda homolitik olarak, polimerik radikal ve kararlı serbest radikal vermek üzere kırılır ve polimer zincirleri (aktif) polimerik radikal monomerlerle reaksiyona girerek büyümeye başlar. Bu sırada nitroksil ile polimerik radikalın yeniden buluşmasıyla uyuyan ürün (dormant) ortaya çıkmaktadır. Homolitik parçalanma, monomer katılımı, tekrar birleşme döngüsü tekrarlanarak polimer zinciri kontrollü bir şekilde büyümeye devam eder.

NMP yöntemini kullanarak polimerlerin sentezi; ünimoleküler veya bimoleküler başlatıcılar ile yapılabilmektedir [12]. Bimoleküler sistemde klasik radikal başlatıcıların (BPO, AIBN) yanısıra 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) gibi bir nitroksit kullanılmaktadır. Başka bir deyişle bu polimerizasyon yönteminde başlatıcı olarak yüzeye kolaylıkla tutunabilen azo veya peroksit başlatıcıları kullanılır.

Bimoleküler başlatıcı sisteminin dezavantajları molekül ağırlığı, zincir uçlarında ve zincir mimarisi gibi yapısal özellikleri üzerinde kontrol eksikliğidir. Bu eksikliklerin üstesinden gelmek için Hawker ilk defa 1994 yılında NMP için bir ünimoleküler alkoksiamin başlatıcı kullanımını bildirmiştir [43]. Bir tek-aşamalı reaksiyonda, BPO, TEMPO ve stiren (St) varlığında tek moleküllü başlatıcı sentezlenmiştir. Başlatıcı sentezi ilk Georges tarafından St molekülü için benzer şekilde rapor edilmiştir. Bununla birlikte, reaksiyon yeterince düşük bir sıcaklıkta (80°C) bir benzoil radikali bir St birimine ilave edilmiş ve TEMPO molekülü tarafından yakalanmış ve reaksiyon fazla devam etmemiştir (Şekil 2.6). Ayrıca Hawker ve arkadaşları, ünimoleküler başlatıcı ve bunun türevlerini kullanarak, polidispersiteyi (PDI) kontrol ederek dar molekül ağırlıklı, istenilen zincir uçları ve zincir mimarisine sahip çeşitli malzemeler sentezlemişler [44-46].



Şekil 2.6. NMP polimerizasyon mekanizmasının gösterimi [47].

Bir başka çalışmada, Hawker ve arkadaşları tarafından NMP yönteminde yaygın olarak kullanılan ünimoleküler başlatıcıları incelenmiştir [37]. TEMPO'nun tek kullanıldığı ünimoleküler reaksiyonlarda, reaksiyon sıcaklığı ve dönüşüm reaksiyonu sınırlayan iki önemli parametredir. Direk sentezin yanında, yüzeyde başlatılan NMP'nin ilk uygulaması Hussemann ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yayımlanmıştır [48]. Bu çalışmanın ardından, yüzeyde başlatılan NMP tekniği ile farklı katı yüzeyler üzerinde ve farklı zincir uzunluğuna sahip polimer fırçaların sentezlendiği çalışmalar literatürde yerini almıştır [49].

Yaşayan serbest radikal polimerizasyon ve bimoleküler başlatıcılar yöntemi ile düşük polidispersite (PDI=1.20) ve uygulanabilir bir sentetik metodolojiye sahip polimerizasyonları ve daha sonra PS<sub>1</sub> bazlı blok kopolimerlerinin sentezi Georges tarafından rapor edilmiştir [45]. Bu çalışmanın en önemli özelliği; nitroksitlerin, düşük sıcaklıklarda polimerizasyon inhibitör olmalarıdır. Dolayısıyla onlar Solomon tarafından radikal tutucusu ve polimerizasyonun ara maddeleri olarak kullanılmıştır.

Ayrıca yükseltilmiş sıcaklıklarda bu nitroksitler polimerizasyon araçları değil belki önleyicileri olarak hareket ederler. Sıcaklığın 130 °C artırması ve yığın (kütle) sistemlerinde yapılması, sistem BPO ve kararlı bir nitroksitten oluşumu ile sonuçlanırlar. Şekil (2.7)'de yapılan polimerizasyonda St monomeri TEMPO ve BPO varlığında reaksiyona vermiş ve bu reaksiyon sonucunda NMP yöntemi ile sentezlenen polimerde mol kütlesi ve dönüşümün doğrusal bir şekilde artmış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca polidispersite değeri çok küçük bir miktar olarak (PDI=1.2) bulunmuştur. Bir serbest radikal yöntemi için bu miktarın (PDI=2) alt sınırı teorik olarak önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlenmiştir [50].

Hawker tarafından nitroksit aracılığıyla sentezlenen polimerler TEMPO/St bazlı polimerizasyon sistemleri için sınırlı kalmıştır.

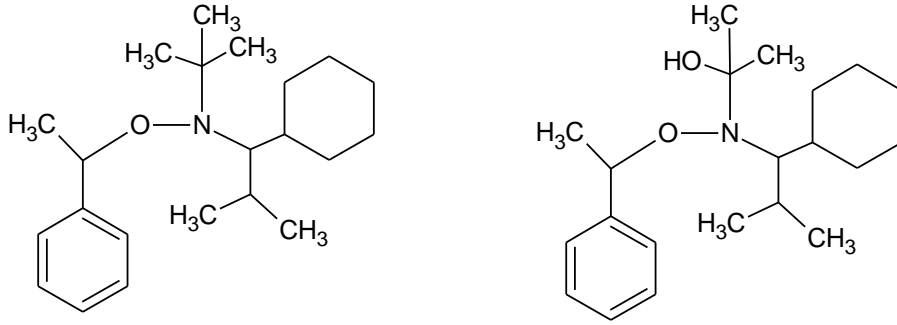
Georges ve arkadaşları akrilatlar ve dienleri polimerize etmek için 4-okso-TEMPO [51] türevlerini, aseton ve glikoz gibi indirgeyici maddeler varlığında kullanmışlardır (Şekil 2.7).

Bimoleküler ve ünimoleküler azot aracılığıyla polimerizasyon sistemleri karşılaştırıldığında her bir polimerleşme reaksiyonunun aynı mekanizma üzerinden yürüdüğü belirlenmiştir. İlk olarak başlatıcı molekülü yüzeye bağlanır. İnert gaz atmosferinde (azot, helyum vb.) polimerleşme ortamının ısıtılmasıyla serbest radikaller meydana gelir. Serbest radikallerin meydana gelmesinin ardından monomerler bu serbest radikallere ardarda katılarak polimerleşme reaksiyonunu başlatırlar ve polimer zincirleri yüzeyde büyütülür. Yüzeyden ayrılan başlatıcı molekülünün diğer kısmı ise çözelti ortamında polimerleşmeyi başlatır ve böylece hem yüzeyde hemde çözelti ortamında polimer sentezlenmiş olur [52].



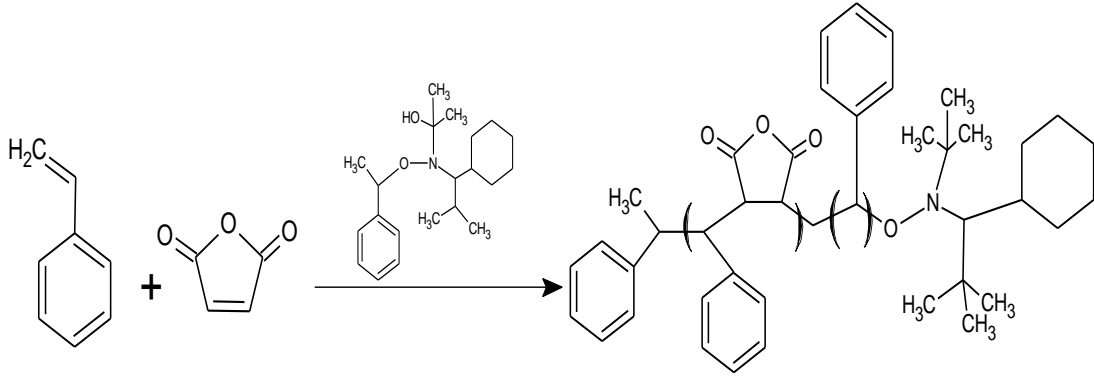


için  $\beta$ -fosfonat konumunda olan bir nitroksit ajanı ve radikali kaynağı olarak AIBN kullanılması ile Gnanou ve çalışma arkadaşları tarafından başarılı bir reaksiyon ile gerçekleştirilmiştir [53]. Onlar bu başlatıcı sistemini kullanarak 1.11 gibi düşük PDI sahip akrilatların polimerizasyonunu bildirmişlerdir. Son yapılan çalışmalarda nitroksit aracılığıyla kararlı serbest radikal polimerizasyonu kullanılmak üzere bir "evrensel" tek moleküllü başlatıcı geliştirmek amacıyla  $\alpha$ -hidrojen içeren alkoksiaminler incelenmiştir. Alkoksiaminin her iki başlatıcı yapıları (Şekil 2.8), özellikle çok sağlam ve başarılı bir şekilde akrilat, akrilamid, akrilonitril bazlı monomerlerin polimerize edilmesi için bulunmuştur. Ayrıca, yukarıda belirtilen monomerlerin kombinasyonlarına göre dar polidispersite sahip blok ve rastgele bir kopolimerin sentezi başarılı bir şekilde yapılmıştır [54].



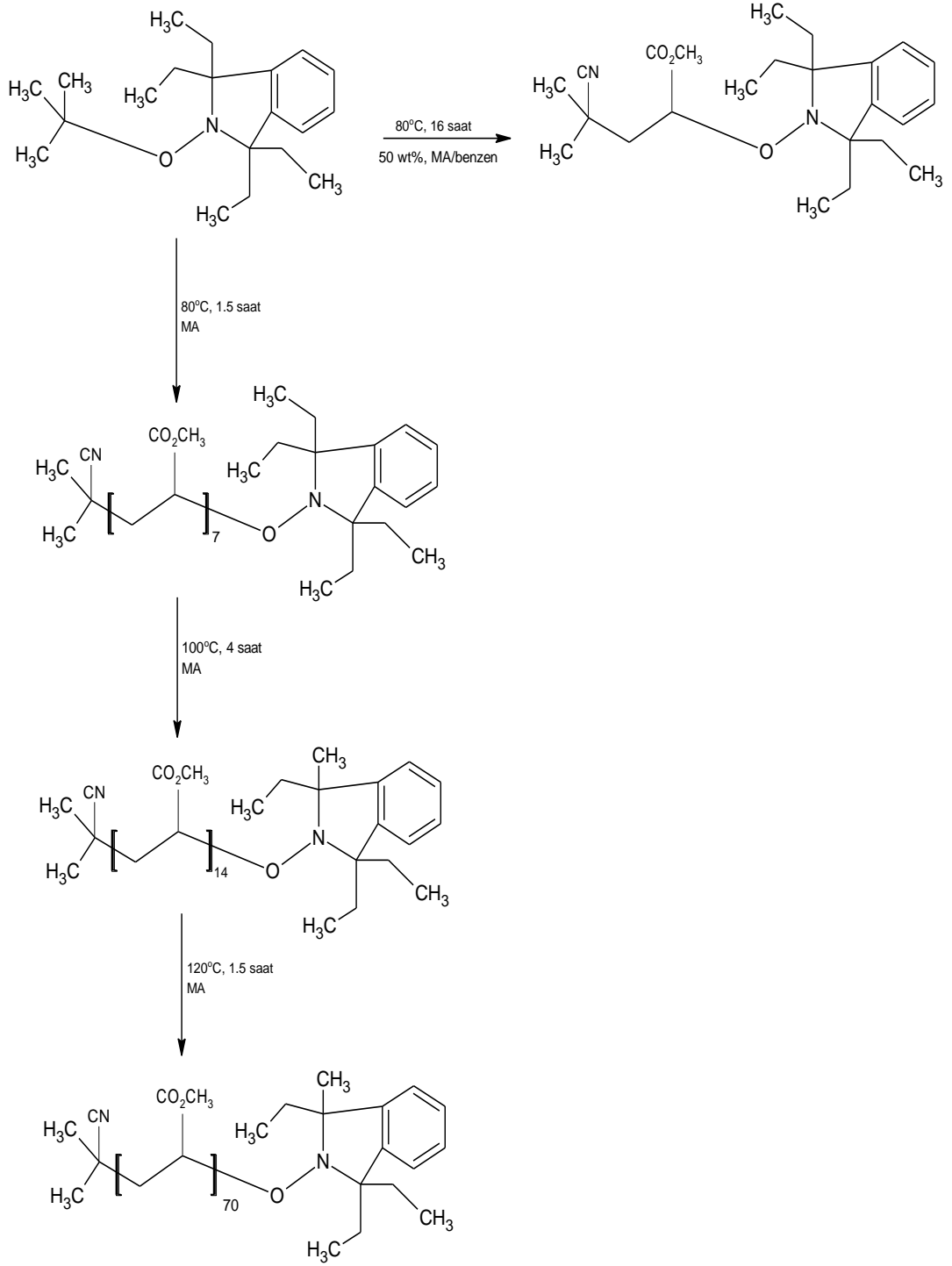
Şekil 2.8. NMP polimerizasyonunda Hawker tarafından kullanılan akrilik  $\alpha$ -hidrojen alkoksiamin başlatıcısı [55].

Son zamanlarda bir alternatif St/MA kopolimeri bu başlatıcılarla sentezlenmiştir. St-ko-MA fazla konsantrasyonu ve ünimoleküler başlatıcı varlığında, kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. St ve MA kontrollü kopolimerizasyonunda, MA kaynağı tükenmiş olduğuna kadar ve bu noktada St monomeri kontrollü bir şekilde polimerize etmesine kadar sürekli reaksiyonun devam ettiğini bildirmiştir (Şekil 2.9).



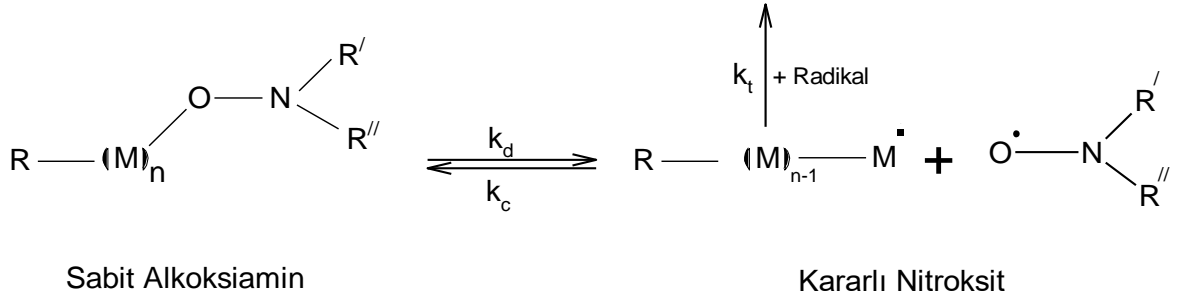
Şekil 2.9. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(St-*ard*-MA-blok-St) reaksiyon mekanizması [56].

Metil akrilatın (MAc), NMP çözültü polimerizasyon sistemi ile, 80 °C da ve benzen çözücüsü kullanarak yapılmıştır. Reaksiyon koşullarında göstermiş olduğu gibi, reaksiyon ilk 80 °C başlatılmış ve daha sonra NMP polimerizasyon koşullarını sağlamak için 100 °C ve daha sonra 120 °C kadar yükselmiştir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. NMP yöntemi ile sentezlenen metil akrilatın reaksiyon mekanizması [46].

NMP sisteminde farklı başlatıcılar kullanarak çeşitli yapıları sahip polimerler sentezlenebilmektedir. Şekil 2.11'de NMP'de alkoksiamin ile kararlı nitroksit arasında denge reaksiyon mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 2.11. Alkoksiamin ile kararlı nitroksit ajanı arasında denge reaksiyonu [57].

NMP'de polimerizasyonun kontrolü ve buna bağlı olarak eklenen monomer sayısı ve polimer mol kütlesi kararlı bir nitroksit radikali ile sağlanır. Polimerizasyon sisteminde nitroksit radikali, çoğalmakta olan diğer radikaller ile bağ oluşturur. Oluşan bu bağ radikal derişimini azalttığı için, sonlanma reaksiyonlarının oranını düşürür. Bu durum NMP'nin yaşayan karakterinin en temel göstergesidir.

NMP polimerizasyonu diğer kontrollü polimerizasyon yöntemlerine göre avantajları vardır. Bu avantajların önemli kısımları bu şekilde açıklanabilir:

- i) Diğer yöntemlerde kullanılması gerekli olan metal katalizörlerin ortamda bulunmaması.
- ii) Polimerizasyon sisteminin son derece başlatıcı ve kontrol amaçlı radikal tutucuyu içermesi.
- iii) Homojen ve heterojen polimerizasyon tekniklerinde kullanılabilmesi.
- iv) Aktivasyon-deaktivasyon dengesine sıcaklık yükselmesi ile kolaylıkla ulaşılabilmesi.
- v) Soğutma ile de reaksiyonu durdurulabilmesi.
- vi) Birçok monomer kontrol edilerek reaksiyon verebilmesi.
- vii) Saflaştırma gerektirmeyecek ölçüde renksiz ve kokusuz polimerler elde edilebilmesi.
- viii) Farklı fonksiyonel gruplara sahip monomerlerle etkin bir şekilde polimerizasyon yapılabilir olması.

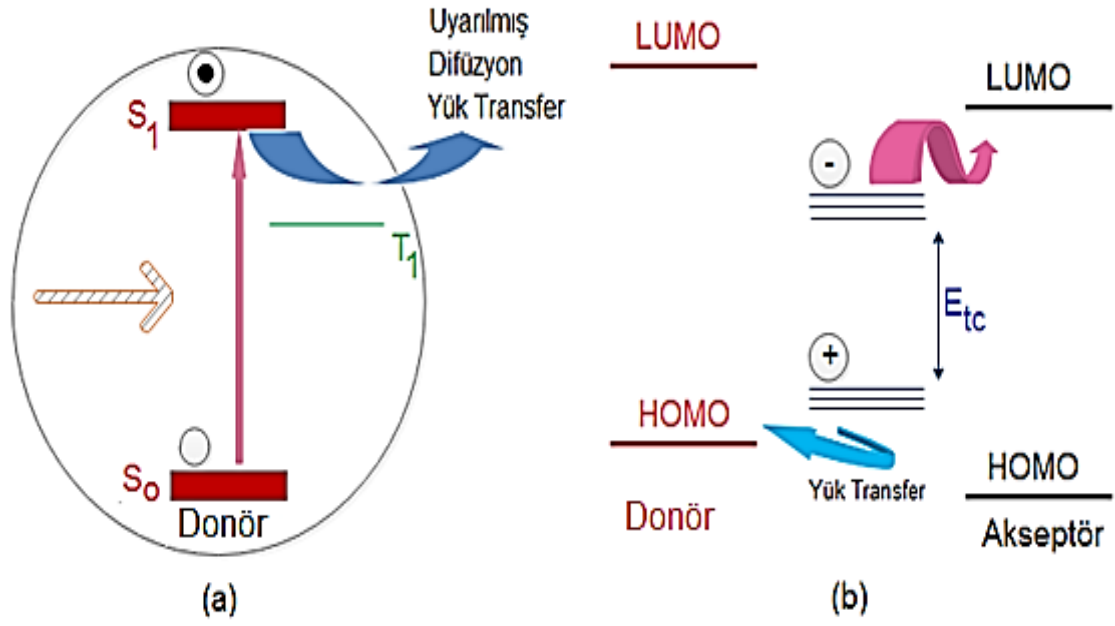
Yukarıda sayılan önemli avantajları, kullanım açısından geniş fonksiyonel gruplu monomerlerin kullanımına izin vermektedir [58].

### **2.2.5 Yük Transfer Kompleks (CTC) Radikal Kopolimerizasyonu**

Kompleksler elektron akseptörleri ile elektron donörlerinin zayıf olarak uyarılması vasıtasıyla oluşturulur [59, 60]. Bir kompleksin yük aktarma spektrumu verebilmesi için kompleksi meydana getiren bileşenlerden birinin elektron vermesi, diğerinin ise bu elektronu alması gerekir. Elektron veren bileşene donör, elektron alan bileşene akseptör denir. Elektron donörleri elektron akseptörleri ile karıştırıldığı zaman optik absorpsiyon gözlemlerinden elektron donör-akseptör komplekslerinin oluşumu görülebilir. Çözeltideki renkler bileşenler arasındaki elektronik geçişlerin ve kompleks oluşumunun sonucu olarak çözeltide renklenmeler meydana gelir [61]. Elektron donörleri ile akseptörleri arasındaki elektronik geçişler sırasında meydana gelen enerjinin ışık spektrumunun görünür bölgesine rastlaması halinde bileşikler renkli olarak görünür [62].

Kompleks modele göre serbest monomerler reaksiyonun kinetiğinde rol almaz, polimer zincirleri monomer komplekslerinin baş-kuyruk homopolimerizasyonu ile büyürler. Mekanizmaya göre elektronca fakir ve zengin olan monomerlerin oluşturduğu yük transfer kompleks (CTC) yapıların polimerleşmesiyle kopolimer oluşur.

CTC temel hal oluşumu elektron alıcı (Akseptör; A) ve elektron verici (Donör; D) moleküllerin arasında kovalent olmayan bağlardaki geçiş ile sağlanır ( $E_{ct}$  enerji sabiti) [63]. Yük transfer komplekslerinin gelişimleri Mulliken tarafından geliştirilen CT modeli ile izah edilebilir. Mulliken modeline göre; elektron alıcı (A) ve elektron verici (D) arasındaki yük transferinin oluşumu; akseptör ve donör moleküllerin arasındaki iyonlaşma potansiyel farkları ya da akseptördaki en düşük boş moleküler orbital (LUMO) ve donördaki en yüksek enerjili moleküler orbitali (HOMO) arasındaki enerji farkıyla esas olarak kontrol edilebilir [53, 64].



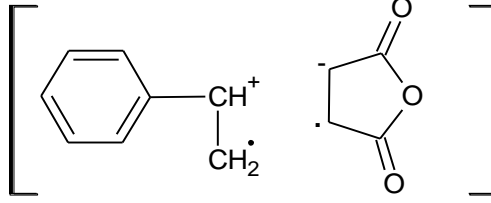
Şekil 2.12. HOMO-LUMO arasında oluşan geçişin şematik olarak gösterimi Temel hal ( $s_0$ ), uyarılmış hal ( $s_1$ ) [65].

Mulliken tipi CTC oluşumu küçük moleküllerin dışında monomerler ve A ve D gruplar içeren polimerler içinde kullanılmıştır [65-69]. Mulliken tipi CTC oluşumu küçük moleküllerin dışında monomerler ve A ve D gruplar içeren polimerler içinde kullanılmıştır [65-69]. Elektron donör ve akseptör kompleksleri reaksiyonların çoğunluğunda ara basamak olarak kabul edilmektedir. Fakat çoğunun oluşum biçimlerini değerlendirmek zordur.

Genel olarak bir donör ve akseptör arasında oluşturulan kompleks; bir bütün olarak kompleksin bir yada daha fazla karakteristik absorpsiyon bantları ile birlikte daha büyük yada daha küçük olan akseptör ve donöre ait absorpsiyon bantlarını da muhafaza eder [59].

Kompleks spekturumunda bileşenlerin absorpsiyonuna ek olarak ortaya çıkan bandın asıl nedeni, Mulliken tarafından tanımlandığı gibi band temel durumundan ( $s_0$ ) uyarılmış duruma ( $s_1$ ) molekül içi yük transfer geçişinin olmasıdır [70].

CTC özelliği polimer esaslı maddelerde, küçük molekül maddelere göre daha etkindir. Polimer zincirlerindeki monomer dizilimi [71] veya kristal alanların oluşumu CTC oluşumu ve oluşan kompleksin kararlılığı konjuge polimer zincirlerinin delokalizasyonu ile ilgilidir [72]. Böylece monomer veya polimer zincirinin üzerinde bulunan tekrarlanan birimlerin elektron yoğunluğu, elektron eksikliği olan moleküllere aktarılmaktadır [73]. St ve MA monomer grupları arasında oluşan CTC, Cais ve ekibi tarafından incelenmiştir (70).



Şekil 2.13. MA ve St monomer çiftleri arasındaki kompleksin oluşumu [74].

Belirli komonomer çiftleri arasındaki kompleksin varlığı spektroskopik yöntemlerle ispatlanabilmektedir. Monomer çiftleri arasındaki donör-akseptör ilişkisi, oldukça renkli komplekslerin oluşumuna olanak sağlar ve bu yapılar yeni absorpsiyon bantları olarak UV-Vis spektrumunda gözlenebilir [75]. Ayrıca yük transfer kompleksleri, NMR spektrumlarındaki küçük kaymalarla da karakterize edilebilir [76].

Elektron donör-akseptör çiftlerini içeren kopolimerizasyonlar ortak özellik olarak; homopolimerizasyona göre daha hızlı polimerleşme, yüksek oranda alternatif yapı gösterirler ve sezilebilir derecede bir homopolimerleşme göstermezler. Kompleks katılım modeline göre, oluşan komonomer kompleksleri serbest monomerlerden çok daha reaktiflerdir ve bunun sonucu olarak zincirlere monomer çiftleri olarak katılırlar ve alternatif dizilimleri oluştururlar [77].

Elektron donör, NVP monomeri molekülü ( $\text{CH}_2=\text{CH}-$  elektron yoğunluğu) tüm vinil alkil (aril) eterleri gibi radikal başlatıcı eşliğinde homopolimerleşirler, ama kolayca elektronakseptör tipli monomerlerle serbest radikallar eşliğinde kopolimerleşirler. Bilindiği gibi MA güçlü elektron-akseptör monomeri olarak elektron-donör vinil monomerleriyle yük değişim kompleksleri oluşturur ve bu kompleksler serbest monomerlere göre kopolimerleşme reaksiyonlarında (monomerlerin radikal ile aktive edilmesi ve zincirin büyüme reaksiyonları) daha yüksek aktiviteye sahiptirler

ve bu nedenle de bir çok donör-akseptör monomer sistemlerinde alternatif kopolimerizasyon gerçekleştirilerek düzenli yapıda (-A-B-A-B-A-B-) ve yaklaşık 1:1 monomer birim oranına sahip kopolimerler (ardışık kopolimerler) sentezlenebilir [78]. Tez çalışmasında çeşitli NVP:MA molar oranlarında (NVP:MA = 20:80, 40:60, 50:50, 60:40, 80:20) hazırlanmış monomer karışımlarından yük transfer kompleks sistemini kullanarak kopolimerler sentezlenmiştir.

### 2.2.6 Ardışık Kopolimerizasyon

Vinil tipi monomerlerin sahip olduğu çift bağlarının arasında elektronegativite nedeniyle oluşan polarite farkı; monomerler arasında yük transferine ve ardından ise; ardışık kopolimer oluşumuna imkân tanır. Örneğin –CN veya –COOH gibi elektron çekici gruplar bağlı çift bağa sahip bir monomer ile –OR veya –CO<sub>2</sub>Me gibi elektron verici gruplara bağlı çift bağa sahip bir monomer alternatif kopolimer oluşturur. Cowie J.M.G tarafından yapılan bir çalışma ile kompleks kopolimerizasyon modeli çok sayıda elektron donör-akseptör çiftlerine uygulanmıştır [73]. Bu CTC sistemi için; MA, maleimid, akrilat ester, akrilonitril, sülfür dioksit, siyano etilen ve fumarat ester gibi elektron çekici monomerler ile elektron verici vinil alkol, dienler, heterosiklik dienler, vinil ester, stiren, trans stiben, vinil eterler gibi monomerler, yük transfer kompleksi üzerinden kopolimer oluşturduğu ispat edilmiştir (Tablo 2.1).



**Tablo 2.1.** CTC oluşturma kapasitesi olan donör ve akseptörler olarak kullanılan monomerler [79, 80].

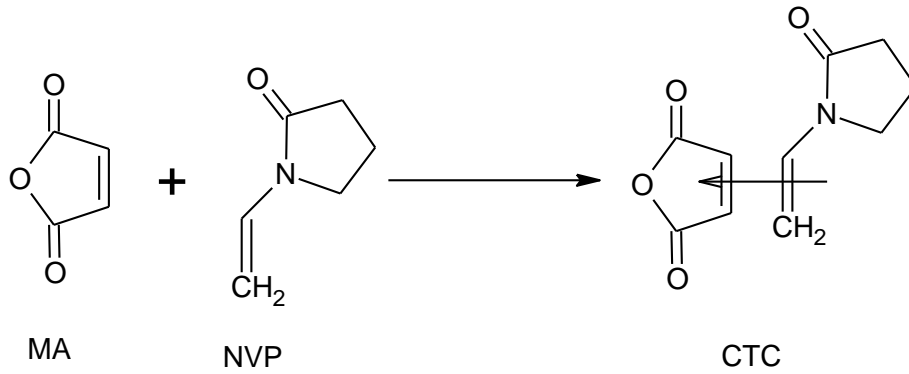
<b>Donörler</b>	<b>Akseptörler</b>
Stiren	Maleik Anhidrit
Fenil Asetilen	Metil Maleat
Vinil Piridin	Dietil Maleat
trans Stilben	Maleimid
Vinil Naftalen	N-fenil maleimid
Bütadien	Sülfür dioksit
İsopropen	Dietil maleat
Siklopenten	Metil akrilat
Akrilonitril	Akrilonitril
Furan	Viniliden siyanür
Tiyofen	Tetrasiyanoetilen
Metil metakrilat	Polinitro alifatik bileşikler
N-vinil pirolidon	Polinitro aromatik bileşikler

Bu kopolimerizasyon tekniğinde; monomerlerin başlatıcı eşliğinde polimerizasyon pek çok polimerizasyon tekniğine uygulanabilir. Genel olarak, ürünün bileşimi nadiren monomer besleme oranını takip eder. Ayrıca bir kopolimerizasyon reaksiyonundan elde edilen bileşim, doğrudan monomerlerin homopolimerleştirilmesi oranlarının bilgisinden tahmin edilemez. Bu nedenle, bir kopolimer zincirinde tekrarlanan monomerik birimler, birleşmeyi belirleyen faktörlerde homopolimerizasyon reaksiyonları önemli bir özellik değildir.

Bu kopolimerizasyonda monomerler birbirine tercihli eklenerek zinciri devam ettirirler, buda monomerlerin ana zincir üzerinde alternatif olarak devam etmesini sağlamaktadır [81]. Homopolimerizasyonu zor olan monomerlerin, genellikle alternatif kopolimerizasyon yeteneğine sahip oldukları bulunmuştur. Örneğin güçlü bir elektron alıcı kuvvetli bir elektron vericiye ilave edilirse, serbest bir radikal kaynağın varlığında düzenli ardışık kopolimerler elde edilebilir [82]. Ardışık kopolimerler üretmek için en çok çalışılan monomer komonomerler maleik

anhidrittir. MA çok güçlü bir elektron alıcı ve homopolimerizasyonu mümkün olmayan bir monomerdir [83]. MA elektron verici monomerler ile reaksiyona girerek ardışık kopolimerler oluşturmaktadır [84].

Bir kopolimerde her monomerden ne kadar bağlandığı reaktivite oranları,  $r_1$  ve  $r_2$  değerleri ile bilinmektedir. Ardışık kopolimerlerde reaktivite oranları  $r_1 \approx 0$  ve  $r_2 \approx 0$  şeklinde verilir ve bu da  $M_1$  ve  $M_2$  monomerleri zincir boyunca değişmeli dizilirler ve bir ardışık kopolimer yapısına sahip olduklarını gösteriyor.

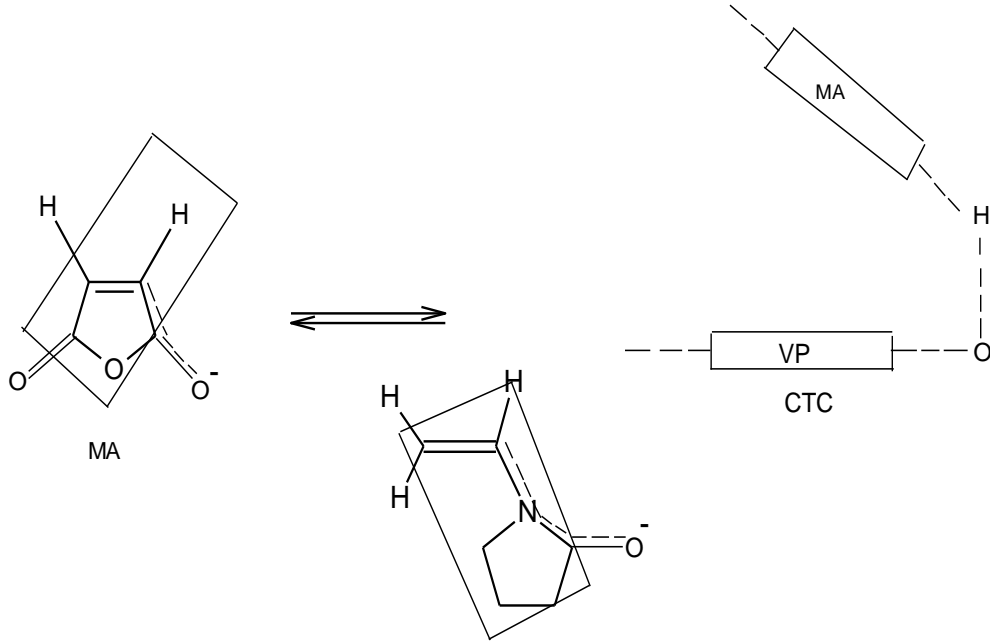


Şekil 2.14. MA ve NVP arasındaki, CTC reaksiyonu [9].

Özellikle ilgi çeken birçok 1,2-disübstitüe ve siklik olefinler SRP yöntemleri homopolimerize olmazlar ancak MA ile ardışık kopolimerler oluşturabilirler. Trans-stilbene ile MA kopolimerizasyon reaksiyonu ilk kez 1930 yılında yapılmıştır [85]. Daha sonra Bartlett ve Nozaki alil asetat ve MA monomerlerini eşmolar olarak kopolimerleştirmişler [86]. Bu sonuçlar bilim insanları tarafından bu komonomerlerin CTC reaksiyonu üzerinde olduğunu ispatlanmıştır [83, 87-91].

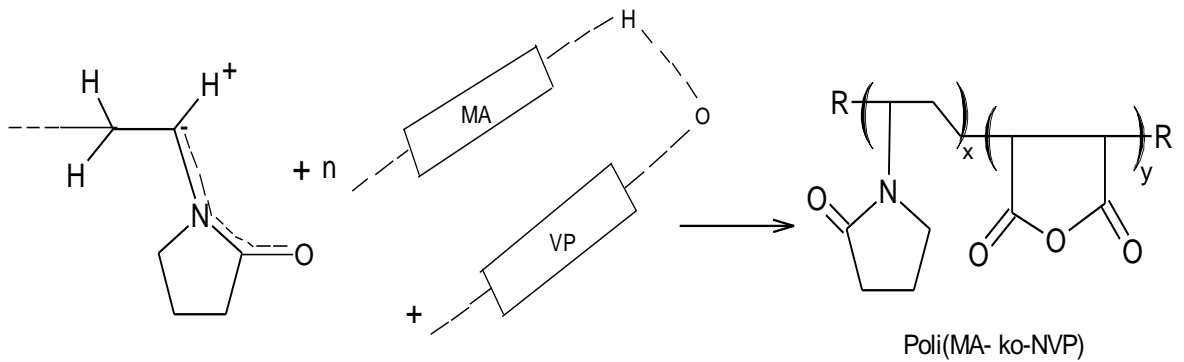
Komonomer çiftleri arasında A...D arasında oluşan CTC genellikle UV-Vis spektroskopisi kullanılarak karakterizasyonu yapılmıştır [92, 93]. CTC mekanizması üzerinden oluşan ardışık kopolimerlerin sentezinde; sıcaklık ve çözücü polarite etkisi incelenmiştir [82, 94-97]. Elektron verici komonomerlerin furan, konjüge dienler, divinil eter, stiren [82, 98, 99] alkil sikloalkanlar [96, 97, 100-104] ve metil vinil silanlar ile MA monomerleri arasında kopolimerizasyonu gerçekleşmiştir [98, 105, 106]. NVP-MA gibi güçlü donör-akseptör (elektron veren-elektron çeken) çiftleri

ardışık kopolimer sentezine imkân tanımaktadır. NVP-MA sistemi için düşünülen CTC yapısı Şekil 2.15'de gösterilmiştir [106, 107].



Şekil 2.15. NVP ve MA monomer çiftlerinin arasında oluşan kompleksin mekanizması [106].

Elektron yoğunluğuna sahip NVP ile elektron eksikliği olan MA monomerlerinin oluşturduğu CTC yapıların polimerleşmesiyle NVP-MA kopolimerleri ardışık kopolimerler olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.16). Oluşan kompleks monomerler [A...D] kopolimerler serbest monomere göre çok daha reaktiftirler ve bunun sonucu olarak zincirlere monomer çiftleri olarak katılır ve ardışık dizilimleri oluştururlar [108, 109].



Şekil 2.16. MA ve NVP arasında CTC mekanizması [106].

## 2.2.7. Maleik Anhidrit Kopolimerleri

### 2.2.8.1. Poli(maleik anhidrit-ard-N-vinilpirolidon)

Çalışmamızda kullanılan N-vinilpirolidon (NVP) ve Maleik Anhidrit (MA) fonksiyonel özelliği sebebiyle tepkime verme kabiliyetine sahip olmasının yanı sıra polifonksiyonel maddeler ile de etkileşerek birçok fonksiyonel özelliğe sahip yeni makromoleküllerin sentezlenmesini sağlayan bir monomerlerdir [110, 111]. MA halkalı bir yapıdadır, bu halkanın kimyasal maddelerle etkileşerek açılması farklı özelliklere sahip maddelerin sentezlenmesini sağlar [112]. Oldukça fonksiyonel özelliğe sahip maleik anhidrit monomerinin halkasının verdiği katılma tepkimesiyle elde edilen MA-kopolimerleri, çok sayıda tepkime verebilme kabiliyetine sahiptirler. Bu tepkimeleri 2 gruba ayırılır;

- 1) Esterleşme, kopolimerleşme ve kondenzasyon gibi anhidrit zincirleri ile büyüyen tepkimeler.
- 2) İki farklı monomer ait fonksiyonel özelliğe sahip grupların anhidrit halkasıyla verdikleri tepkimeler girer [113].

MA'deki her iki karbonil grubunun reaktif olması ve çifte bağdaki her iki karbonil oksijeninin çekim gücü nedeniyle maleik anhidrit ticari sahalarda oldukça uygulama imkanı bulmuştur.

Maleik anhidrit, maleik asitteki karboksil gruplarının esterleşmesiyle meydana gelir. En önemli özelliği radikal polimerleşmede kompleks oluşturmaktır. Kompleks oluşturuş maddeler polimerleşme meyli az olan monomerlerin polimerleşme meyillerini arttırarak kopolimer meydana getirebilirler. Maleik anhidrit genellikle bu kompleks üzerinden kopolimer oluşturur ve bu oluşun kompleks yük-transfer kompleksi olarak isimlendirilir [114, 115].

Maleik anhidrit yalnız başına polimerleşmez. Fakat diğer monomerlerle beraber ardışık, rastgele ya da blok kopolimerler meydana getirebilir ve birçok kopolimerleşme için MA ardışık kopolimer oluşturmayı tercih eder [116].

MA'de  $\pi$  bağının elektronları karbonil grubu tarafından çekildiğinden, elektron yoğunluğu önemli oranda azalır. Ayrıca,  $\pi$  bağı çok büyük sterik engeldir ve bu sebeple aktif merkezler  $\pi$  bağına açamazlar. Tek başına MA monomerinin homopolimerizasyon başaramamasının nedeni; MA radikalleri bir araya

geldiğinde, karbonil (C=O) grupları elektron çekici özellikleri nedeniyle, iki karbonil (C=O) grubu arasında itme gücü ve sterik engel olduğundan polimerleşme gerçekleşmemesi olarak ifade edilmiştir [117].

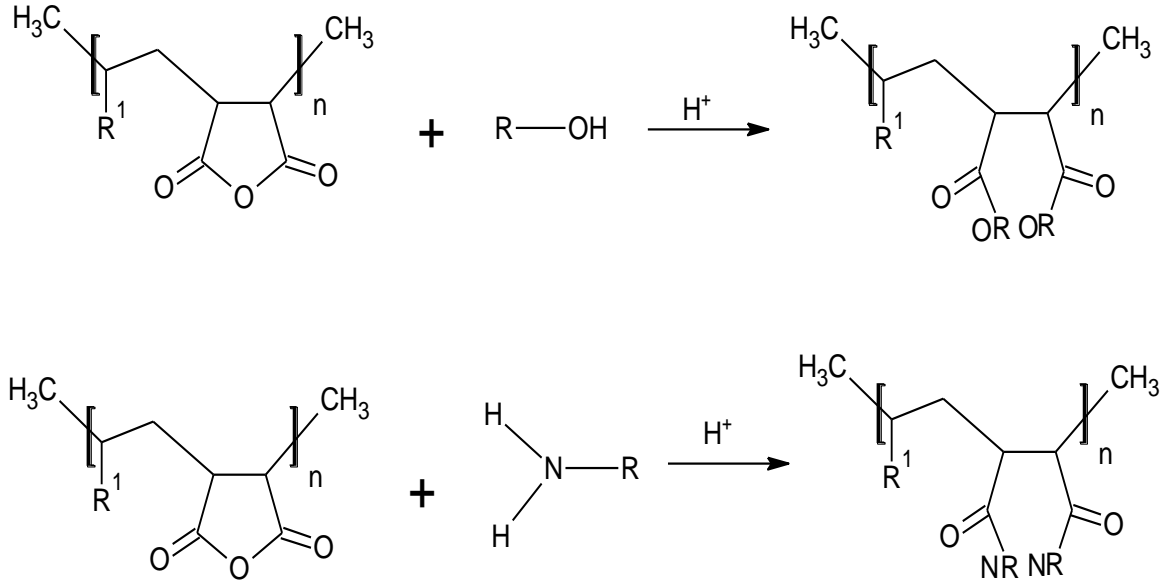
Maleik anhidritin sulu ortamdaki kopolimerleşmesinde maleik anhidritin maleik asite dönüşmemesine dikkat edilmelidir. Çünkü maleik asit, maleik anhidrit kadar kolay kopolimerleşmeye uğramaz [116]. MA kopolimerleşmeleri, camsı geçiş sıcaklığı, polimerlerin polarite değerleri, zincir rijitliği ve reaktiviteleri gibi fizikokimyasal özelliklerini geliştiren bir yöntem olarak çok önemlidir. Polimer zincirlerindeki MA yapıları hidrofilitik, adhezyon, boyanabilirlik, ısı ile bozulma sıcaklığının artışı ve diğer polimerlerle birleşebilme özelliklerini geliştirir. Daha da mühimi MA yapısındaki anhidrit ya da karboksilik asit kısmı kimyasal tepkimeler ve/veya çapraz bağlanmaya imkân verir [118].

Maleik anhidritin vinil halojenürleri, vinil süstitüe aromatikleriyle, akrilik asit, vinil esterleri, akrilamid, akrilik, metakrilik esterler, olefinler, akrilonitril ve bilinen diğer tip monomerlerle eş molar olan ve olmayan kopolimerleriyle alakalı birçok patent mevcuttur [118]. Maleik anhidrit, tipik radikal başlatıcılı maddeleriyle kopolimerleşme ile rastgele kopolimerler vermektir. Aksine, belli bazı monomer çiftleri, maleik anhidrit dahil çeşitli komonomerler, besleme oranlarına bakmaksızın, blok ya da eş molar polimerleşir [7, 118]. Maleik anhidrit kopolimerleri ilk olarak biomedikal uygulamalarda kullanılmakla birlikte kazan taşı oluşumunu engelleme ajanı olarak, deterjanlarda, dağıtıcılar olarak, yumaklaştırıcı olarak, toprak şartlandırıcısı olarak da kullanılmaktadır. Suda, sulu çözeltilerindeki davranışları çoğunlukla poliyonlar ve karşıt iyonlar arasında elektrostatik etkileşimlerle etkilenen, karboksilik polielektrolitler vererek hidroliz olurlar. Bu davranış aynı zamanda polimerin şekli, komonomerin hidrofilitik/hidrofobik karakteri, maleik birimlerinde iki komşu karboksilik grubun bulunması gibi maleik asit kopolimerlerinin yapısal karakteristikleriyle de etkilenir [119].

İlaç salınım sistemlerinin etki mekanizması açısından MA monomerini içeren bazı kopolimerlerin RNH<sub>2</sub> ve ROH benzeri moleküllerle etkileşerek türevlendirilmesi ve bu türevlerin suda çözünür özellikte olması oldukça mühimdir. Anhidrit içeren poli(MA-ard-NVP) kopolimeri anti-viral, anti-tümör, anti-koagulant aktiviteler, anti-fungal, anti-bakteriyel ve anti-inflamasyon ajan gibi mühim biyolojik aktiviteye

sahiptir. Bu özelliklere ek olarak, bazı MA kopolimerlerinin de kendi başlarına antitümör etki gösterdiği gözlenmiştir [111].

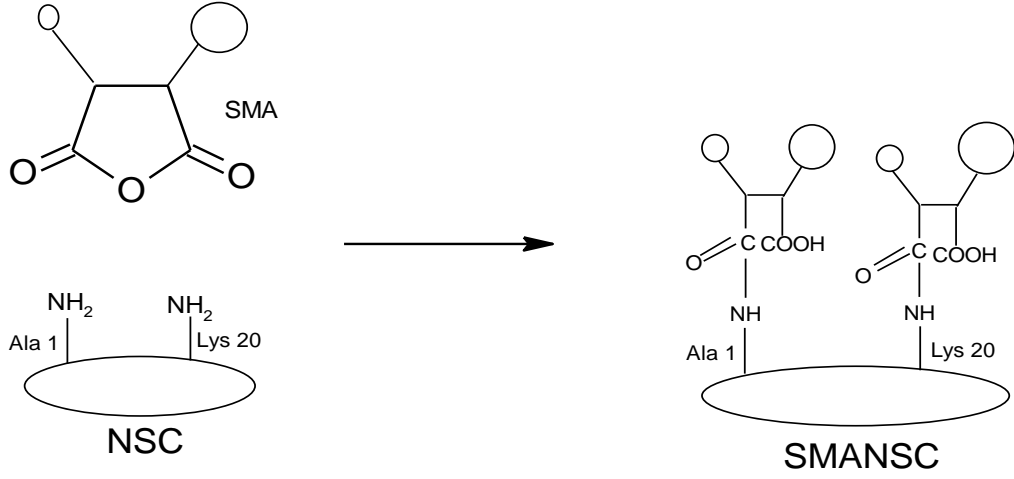
MA monomeri, yapıştırıcı, plastikleştirici, yüzey kaplama ve kopolimerizasyonda da oldukça sık kullanılan bir maddedir [120].



Şekil 2.17. Asit katalizörü varlığında MA kopolimerindeki anhidrit grupları esterleşme reaksiyonu [121].

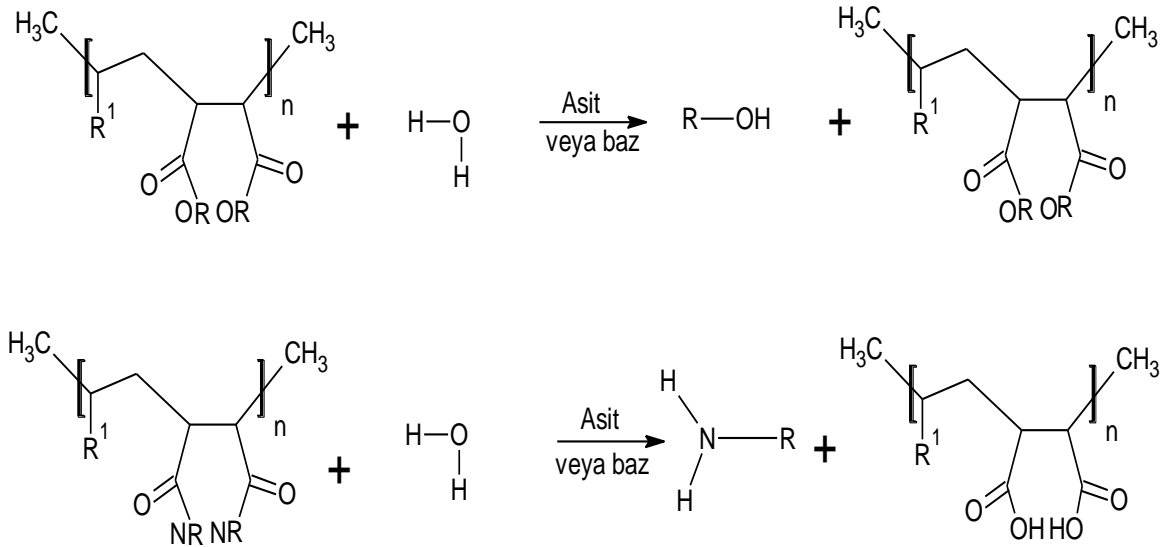
MA kopolimerleri ilaçları bağlayabilme ve hidroliz ile birlikte ilacı salıverme özelliklerine sahiptir. Ayrıca amidizasyon ve esterleşme reaksiyonlarında kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılır [122]. Asit katalizörü varlığında MA kopolimerindeki anhidrit grupları esterleşme reaksiyonu, amidizasyon reaksiyonu gerçekleştirme özelliğine sahiptir (Şekil 2.17).

MA hidroliz ile ester yapısına ve amit gruplarının daha hidrofilik olan dikarboksilik asitlere dönüşmesi sağlanır [123]. Vinil monomerlerinin ilaç dağılım sistemlerinde kullanımına başka bir örnek ise poli(stiren-ko-maleik asit/anhidrit) (SMA)'dir. SMA kopolimerine ait yapılan bir çalışmada, karaciğerdeki tümörü tedavi etmek amacıyla piyasaya sürülen ürün SMA'ya antitümör proteini neokarcinostatin (NCS) bağlanması ile polimer-ilac konjugatı hazırlanmıştır (Şekil 2.18) [121].



Şekil 2.18. SMA ve NSC arasında bağlanma mekanizması [121].

İlaçların hidrolizi ile vücut içerisinde asidik ya da bazik ortama ulaşan polimer ilaç konjugantının yapısında bulunan alkol grubu veya amin grubu (Şekil 2.19) ilacın çözünmesini sağlamaktadır [117].

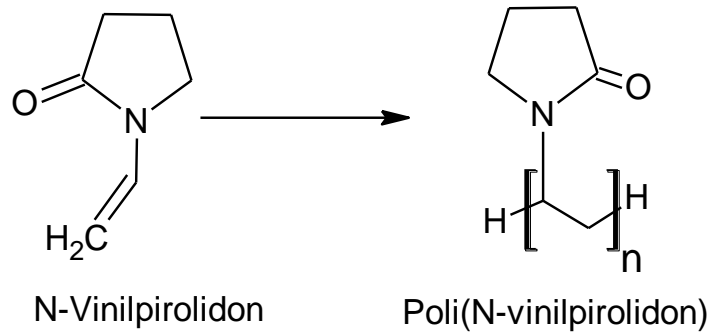


Şekil 2.19. İlaçların hidrolizi ile vücut içerisinde asidik ya da bazik ortama ulaşan polimer-ilaç konjugantı [35, 121].

NVP, mol kütlesi 111.14 g/mol, kaynama noktası 92–95 °C, erime noktası 13.5°C, viskozitesi 2.07 cP ve özkütlesi 1.04 g/cm<sup>-3</sup> olan nem çekici bir monomerdur. 2-

pirolidon ve asetilenin endüstriyel sentezi ile üretilir [124]. Su, benzen, toluen, aseton, *p*-dioksan, dimetil formamit ve kloroform gibi çözücülerde çözünür. NVP'da bulunan vinil bağı çok reaktiftir ve farklı katılma reaksiyonları vermektedir. NVP'nin polimerizasyonu, radikalik olarak gerçekleşecek ise BPO veya AIBN gibi başlatıcı gereklidir. Eğer katyonik olarak gerçekleşecek ise bor triflorür (BF<sub>3</sub>) gibi bir katalizör; anyonik olarak gerçekleşecek ise potasyum amit (KNH<sub>2</sub>) gibi bir katalizör kullanılmaktadır [125].

NVP'nin homopolimerizasyonu sonucunda polivinilpirolidon (PVP) elde edilmektedir (Şekil 2.20). NVP bulunan çift bağ polimerizasyon sonucu tek bağa dönüştüğü için normal şartlarda zehirli olan NVP monomeri, polimerleştikten sonra toksik özelliğini kaybetmektedir [126].



Şekil 2.20. NVP'nin monomerinin radikalik polimerizasyon ile PVP'ye dönüşmesi.

[127].

PVP, yüksek derecede hidrofilik ve biyouyumlu olmasından dolayı ilaç, yapıştırıcı, kozmetik sanayinde, yiyecek sektöründe ve lens üretiminde sıklıkla kullanılır. Bu tez çalışmasında NVP-MA kopolimeri ilaç taşıyıcı olarak kullanılmıştır.

PVP plastik, kozmetik, seramik, kâğıt, deterjan, elektrokimya, fotokimya ve tıp gibi benzer alanlarda da kullanılır. Parlaklık veren, dayanıklılık sağlayan, büzülme, leke bıraktıracı ve suya dayanıklı katkı maddesi olarak kullanılan PVP tekstilde de geniş kullanım alanına sahiptir. PVP polimerinin kullanıldığı diğer uygulama alanları da; benzinin uzaklaştırılması, petrol sızıntılarının giderilmesi ya da önlenmesi, atık su işlemleri ve damla filtrenin kaplanması vb. PVP cama, plastiğe, metal yüzeylere yapışabilen ve yapışkan özelliği olan maddedir. Bunun yanı sıra kuru piller için



kaplama, televizyonda bulunan görüntülemeyi sağlayan tüpler ve katot ışın tüpleri içinde PVP kullanılmaktadır [120].

(MA-NVP) kopolimeri ilk kez 1951 yılında Morner ve Londley tarafından sentezlenmiştir. NVP-MA monomer sisteminin suda çözünürlüğü ve fonksiyonel anhidrit grupları içermesi nedeniyle pek çok araştırmacı bu kopolimer sistemi üzerinde çalışmışlardır.

Bu tez çalışmasında kullanılan N-vinilpirolidon ve maleik anhidrit monomerleri; kinetik değerler göz önüne alınan makroradikalik CTC mekanizması üzerinden yürüyen kopolimerizasyon; kontrollü olarak büyümeye ve etkin kopolimerleşme oranını düzenlemeye imkan sağladığı gözlenmiştir. CTC radikal kopolimerizasyon ile elde edilen ardışık ve antitümör aktiviteye sahip olan kopolimerlerin yapısal olarak karakterizasyonu ve ilaç taşıyıcı olarak kullanılması tartışılmıştır.

Poli(MA-ard-NVP) antibakteriyel ve antimikrobiyal özellik içeren polimer bir yapıdır [128]. İnsanlarda çeşitli bulaşıcı hastalıklara ve zehirlenmelere neden olabilen ve kirlilik içeren mikro organizmalar polimerik materyaller ile doğrudan ve/veya direkt olarak bulaşabilirler. Mikrobiyel kirlilikten korunmak geliştirilen antimikrobiyal özelliklere sahip polimerik malzemeler ile mümkündür. Fotolitik bozunma ve çözünmeye bağlı olan antimikrobiyal etkinin ve buharlaşmaya bağlı olan kaybı önemli derecede azaltmak içinde geliştirilen antimikrobiyal özellikteki polimerik materyaller kullanılır. Ayrıca polimerik materyaller seçiciliği ve kullanım güvenliği gibi önemli özellikleri bakımından öne çıkmaktadır [16]. Bazı gram pozitif (*L. monocytogen* ve *S.aureus*) ve gram negatif (*Salmonella enteritidis* ve *E.coli*) bakterilerine karşı etkileşimleri incelenen poli(MA-ko-NVP) ve onun polietilen-imin makro komplekslerinin sonuçlarını barındıran çalışmada; -COOH gruplarının sayısındaki artışın sebebinin elektrostatik etkileşimden ötürü *S.aureus* hücrelerindeki dağılma ve parçalanma olduğu anlaşılmıştır. Bu polimerlerin amonyum parçası içeren alkinin yan zincirlerine göre *S.aureus* ve *E.coli*'ye karşı daha yüksek antimikrobiyal özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

### **2.2.8. Kopolimer-İlaç Konjugasyonu**

Kanser günümüzde insanların en çok karşılaştığı sağlık sorunlarından. Sağlıklı hücreler insan vücudunda kontrollü olarak bölünebilme yeteneğine sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde ölen hücrelerin yerini yenileri alabilmekte ve

yaralanan dokular onarılabilmektedir. İnsan vücudunda sorunsuzca çalışan bu sistem, herhangi bir etki ile sağlığını kaybedebilir. Sigara ve alkol tüketimi, kimyasal ve zararlı maddelere maruz kalmak, radyasyon ve hava kirliliği gibi etkenler hücrelerin yapısını bozarak kontrolsüzce hücre bölünmelerine neden olmaktadır [129]. Devamlı bölünüp ve çoğalma yapan bu kanser hücreleri birikerek tümörleri oluştururlar. Erken teşhis olmadığı takdirde kanserli hücreler kan dolaşımı sistemi tarafından bütün vücuda yayılabilirler [130]. Genellikle uygulanan ışın ve kemoterapi gibi tedaviler kanserli hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücreleri de olumsuz etkilemektedir. Kanser ilaçları hızlı çoğalan hücrelere zarar verir ki bunlar da insan vücudunda saç ve sindirim sistemi hücreleridir. Bu görülen yan etkileri azaltmak ve tedavi gerçekleştirmek amacıyla polimer-ilaç insana umut veren bir yöntem olarak tanımlanmıştır [131].

Biyomoleküler ile sentetik polimerin birleştirilmesi eczacılık, tıp ve mühendislik gibi uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Kontrollü ilaç taşınımı ve ilaç-salınımı, doku mühendisliği ve hücre üretimi gibi fonksiyonel uygulamalarda kullanılan katı halde (suda çözünmeyen) polimerik sistemlerin yanı sıra suda çözünebilen polimer-biyomolekül konjugatları son zamanlarda enzim kararlılığının artırılmasında, biyosensörler üretiminde, DNA'nin hücre içi transferinde ve antijenlerin immünojenliğinin düzenlenmesi için protein modifikasyonunda kullanılmaktadırlar. Aynı zamanda, canlı organizmadaki davranışlarının anlaşılmasında ve biyoayırma-biyokonjugasyon teknolojisinin geliştirilmesinde polimerlerin ilaçlar ile etkileşiminin incelenmesi büyük önem taşır [132].

Fizyolojik aktif polimerlerin yapısal özellikleri incelenildiği zaman; nötral, polikasyonik ve polianyonik polimerler olarak üç önemli gruba ayrılmaktadırlar:

- 1) Nötral polimerler; bu polimerlerin fizyoloji etkinliği onların fizikokimyasal özellikler ile yani molekül ağırlık dağılımı, viskozitesi, termodinamik parametreleri ile sağlanır. Yapısal elemanlar fizyolojik sistemler ile çok az etkileşimde bulunmaktadırlar.
- 2) Polikasyonik polimerler; bu polimerlerin fizyolojik etkinlikleri katyonların makromoleküler yapıdaki yoğunluğuna, dağılımına ve yapısal gruplarına bağlıdır. Polikasyonlar biyopolimerler ile ortak işbirliğinde bulunarak polielektrolit kompleksler oluşturur ve hücre yüzeyine güçlü bağlar oluşturur.

- 3) Polianyonik polimerlerin fizyolojik etkinliği, onların negatif yüklü yapılarına bağlıdır. Polikasyoniklardan farklı olarak doğal polielektrolit kompleks oluşumunda genellikle biyopolimerlerle rekabet etmektedirler. Bu sebeple antimikrobiyel, antibakteriyel ve antitümör olarak kullanımları, üzerlerinde taşıdıkları anyonik özelliklerdeki fonksiyonel gruplar sayesinde sağlanmaktadır.

Polimerlerin antitümör özelliklerini sağlayan parametreler:

- 1) Polimer zinciri üzerindeki karboksilik asit yoğunluğu,
- 2) Düşük moleköl ağırlıklı ve dar mol kütlesi dağılımı,
- 3) Polimer zincirlerinin esnekliğidir.

Fizyolojik etkin sentetik ve doğal polimerler yapılarına göre 3 gruba ayrılmaktadır. Bu özelliklere dayanarak MA ve kopolimerleri antitümör, antiviral, antibakteriyel, antifungal ve interferon aktivitesi bakımından kullanıma uygun olarak polimer olarak ilgi çekmektedir [133].

Maleik anhidrit oldukça güçlü bir elektron alıcı monomerdır. Anhidrit halkasının nükleofilik reaktiflere karşı göstermiş olduğu yüksek reaktivite nedeniyle yeni materyaller elde etmek için çeşitli nükleofilik bileşiklerden yararlanmaktadır [134].

Suda çözünebilen anhidrit içeren kopolimerler, polianyonlar olarak kullanılmaktadır ve fonksiyonel türevleri yüksek biyolojik ve fizyolojik aktiviteye sahiptir [135]. polianhidritler, ilaç salımı için eşsiz biyobozunabilir polimerlerdir ve bu polimerler vücut tarafından oldukça iyi tolere edilebilmektedirler [136].

İlaç taşıma sistemleri genel olarak biyobozunur veya biyolojik ortama uyumlu biyomoleküllerden oluşturulduğunda bu sistemlerin başarısının artmasının doğrultusunda çalışmalarımızda amaç; temel olarak insan ve çevreye dost malzemelere dayalı teknoloji ve yöntemler geliştirmektedir [137].

İdeal bir kanser tedavisi, tümörlü alanlara yüksek dozda ilaç verilirken bir taraftan da ilacın yan etkileri en aşağı indirmektedir. Ancak kanser ilaçları hızlı bir şekilde kandan atıldığı için tümöre yeterli miktarda ilaç ulaşmasını sağlamak amacı ile çoğunlukla yüksek dozda ilaç kullanılması gerekmektedir. Bu ilaçlar normal hücreler

tarafından da emildiği için yüksek doz ilaç istenmeyen yan etkilere sebep olmaktadır. İlaçların in-vivo davranışlarını, özellikle bu ilaçları ilaç taşıyıcı sistemlerle birleştirerek değiştirmek mümkün olmaktadır. İlacın taşıyıcı sistemlerdeki davranışı ve dokudaki dağılımı, metabolizması, kinetik parametreleri çok fazla etkilenmemekle birlikte değiştirilebilmektedir [11, 131, 138]. Bazen ilaçların terapötik indeksini arttırmak için ilacın farmokinetik özelliklerinin değiştirilmesi gerekmektedir. Fakat ilaç taşıma sistemlerinin kullanılması daha doğru bir çözüm yolu olmaktadır. Bu durumda ise ilaç taşıyıcılarının hücre ve organ sistemleri ile olan ilişkisini detaylı şekilde bilmesi uygun olmaktadır.

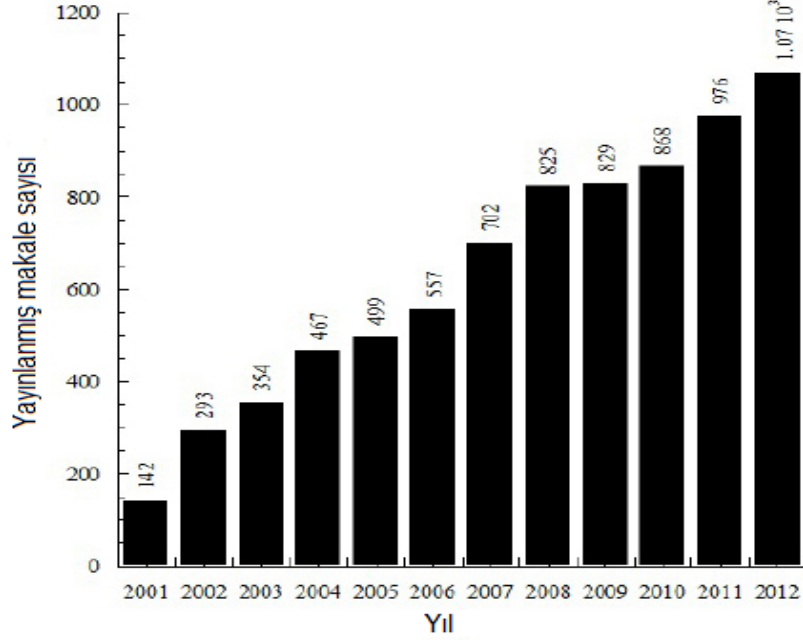
Antikanser ilaçlarının çoğu hücre duvarını geçerek kolay bir şekilde geçer ve molekül ağırlıkları azdır. Bu durum ilaçların kullanım süresini azalttığı gibi tümör hücreleri yanı sıra diğer hücrelerin de zarar görmesine neden olur. Çeşitli katı lipit nanopartiküller, polimerik miseller, ve bu miselleri içeren kendiliğinden oluşan polimerik agregatlar, inorganik ve metal nanopartiküller gibi farklı boyut ve büyüklüklerde çeşitli ilaç taşıma ve salım sistemleri ilaçların yan etkileri azaltmak, biyoyararlanımı arttırmak ve spesifik hedeflendirme sağlamak amacıyla geliştirilmektedir [139].

Son yıllarda gelişmiş polimerizasyon reaksiyonları, amaca uygun tasarlanabilecek olması fonksiyonel, non-toksik, biyoyumlu ilaç taşıyıcı polimerler konusunda ilgi artmıştır. Polimerlerin ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmasının nedenleri;

- 1) Çok farklı yapısal ve fonksiyonel gruplara sahip olması,
- 2) Polimer zincirleri üzerinde hidrofilik ve hidrofobik grupların birlikte bulunabilmesi,
- 3) Polimer-polimer, polimer-ilaç ve polimer-çözücü sistemleri ile özel ve fonksiyonel formülasyonların tasarımı ve hazırlanmasıdır [140].

Yukarıdaki nedenlerin yanı sıra suda çözünebilir ilaçların yavaş bir şekilde salınımı, az çözünen ilaçların biyoyoungunluğunu arttırmada, aynı formülasyona sahip iki veya daha fazla ilacın birlikte dağıtımında polimer taşıyıcının temizlenebilmesi, yüksek toksisiteli ilaçların salınımında hücre ve dokulara olan amaçlama gibi önemli faydaları bulunmaktadır. Bu önemli üstünlükleri ve özellikleri nedeniyle ilaç taşıyıcı

sistemler pek çok farklı alanlarda çalışan bilim insanları için yoğun bir ilgi çekmektedir (Şekil 2.21).



Şekil 2.21. Biyomedikal polimerlerin uygulama alanlarında yayınlanan makale sayısının yıllara göre değerlendirilmesini gösteren grafik [117].

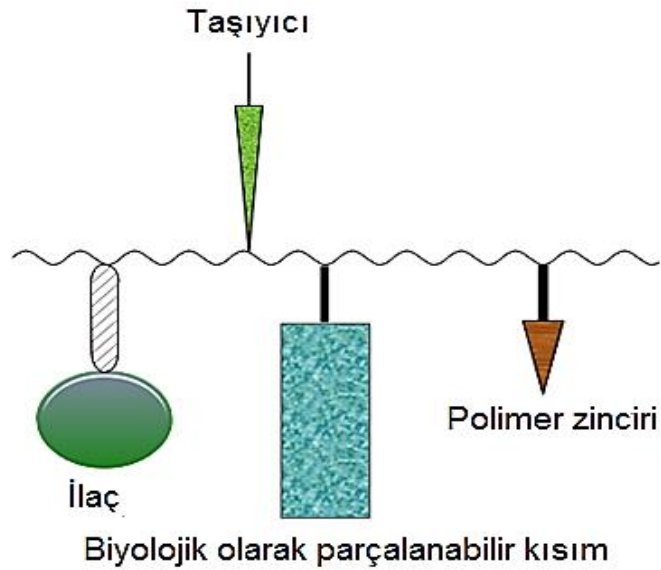
İkinci dünya savaşı boyunca PVP gibi sentetik polimerik plazma açıcılara geniş oranda uyum sağlanmıştır. İlk polimer ilaç konjugatı olarak yan zincirlerinde enzimatik yıkılan veya parçalanmayan ilaçların tutturulduğu meskaline-N-vinilpirolidin konjugatları ortaya çıkmıştır. Böylece biyolojik olarak aktif polimerik ilaçlar popülerite kazanmaya başlamıştır [128].

İlk olarak 1960'larda divinil eter-maleik anhidrit kopolimeri anti-kanser ilacı olarak klinikte test edilmiştir. Erken klinik deneylerde, ağır toksisite nedeniyle başarısız olmuştur ve damar içine verildiğinde, polimerin molekül ağırlığında değişimleri ile ilişkili tehlikeli yan etkileri görülmüştür [141].

1975 yılında ilk olarak Helmut Ringsdorf tarafından kovalent bağlı polimer-ilaç konjugasyonu, sentetik polimerik ilaçlar veya farmakolojik aktif polimerler olarak incelenmiştir [142]. Ringsdorf polimer üzerine kovalent şekilde ilaçların, taşıyıcının ve çözünürleştirici ajanların tutturulmasını öne sürmüştür. Amaçlanmış bir

makromoleküle bir ilacın bağlanmasıyla, ilacın tümöre kontrollü bir biçimde verilmesi ile ve etkisinin artırılması yanı sıra yan etkilerinin de azaltılacağını öne sürmüştür (Şekil 2.22).

Ringsdorf'un önemli çalışmalarından bu zamana dek ilaç konjugasyon çalışmaları pek çok alanın birlikte disiplinler arası bir alan haline gelmiştir. Kimyasal bakımdan konjugasyon işlemi uygun fonksiyonel grupları üzerinde taşıyan (-COOH, -NH<sub>2</sub>OR, -OCOR, vb.), farklı kaynaklardan gelen moleküllerin bir araya gelmesi ile hazırlanmaktadır. Polimer-ilaç konjugasyonunda son zamanlarda sentetik polimerlerin kullanılması sebebiyle suda çözünebilen polimerlerin tasarımı, sentez yöntemleri ve fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesini önemli ve gerekli kılmaktadır [143].



Şekil 2.22. Polimer-ilaç etkileşiminin Ringsdorf modeli ile gösterimi [144].

Kovalent bağlı polimer-ilaç konjugatları ilaç veya biyoaktif (peptid, hormon, enzim, protein vb.) gibi bileşiklerin polimer ana zincir üzerine bağlanarak ana zinciri fizyolojik olarak etkilemektedir. Biyolojik aktif bir molekülün veya ilacın makroradikal üzerine kovalent bağlı olması, konjuge sistemin sadece tedavide değil aynı zamanda doku mühendisliği biyosensörler, affinite ayırmaları, enzimatik proseslerde hücre kültüründe vb. gibi alanlarda kullanımına imkân tanır. Bu alanda

kullanılan polimerlerle yapılan uluslararası yayınlar bu alanın öneminin gün geçtikçe arttığını göstermektedir [145].

İlk sentetik polimer ile anti-kanserojen ilaç konjugatının klinik testleri 1994 yılında başlamıştır. N-(2-hidroksipropil) metakrilamit (HPMA) kopolimeri doksorubisin ile konjuge edilmiştir [146].

Şu ana kadarki sürede on veya yirmi yıl öncesindeki bilgiler olgunlaşmış ve çok disiplinli alanlarda polimer kimyası çalışmalarının artışı ile ikinci nesil polimer ilaçların geliştirilme ve dizaynına yönelim olmuştur. Polimer sentezleri yenilikçi birçok materyale yönelmiş olsa da yeni materyallerin biyolojik ve fizikokimyasal karakterizasyonu için dikkatli olunması gerekmektedir [147].

MA monomer sistemi ile yüksek elektron çekici (A) yapısı sebebiyle CTC oluşturması ve kolaylıkla sulu ortamda hidrolize olarak fizyolojik ortamlarda çözünüyor olması nedeniyle çok özel monomer sistemine sahiptir [148]. CTC ile kopolimerizasyon tekniği; fonksiyonel grupları korumak ve bu gruplar üzerinden modifikasyon yapabilmek için ve ardışık kopolimerler elde edilmesine fırsatını tanıyan özel bir polimerizasyon yöntemidir.

Yapılan bir çalışmada yük transfer kompleks yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-AA) kopolimeri ile anti-kanser ilacı olarak bilinen acriflavinin arasında oluşan konjugasyon mekanizması incelenmiştir [149]. Bir diğer çalışmada ise; neocarzinostatin ilacı poli(MA-ko-stiren) kopolimeri ile modifiye edilmiştir. Daha sonra elde edilen düşük molekül ağırlıklı kopolimerin suda çözünebilen ilaç ile konjugasyonu yapılmıştır [150].

Tez çalışmasında MA ile elektron verici (elektron donör, D) nitelikteki NVP monomeri seçilerek CTC üzerinden kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Kopolimerizasyonun tasarımında; monomer seçimi için iki önemli parametre değerlendirilmiştir. Bunlarda birincisi, elektron alıcı-verici sisteme olan uygunlukları diğeri ise herhangi bir ilaç konjugasyonu dahi olmaksızın ardışık kopolimerik yapının fizyolojik açıdan aktivasyonudur. Bu konuda, farklı ko ve terpolimer sistemleri ile olan çalışmalar sitotoksik ve antitümör aktivite konusunda bize yardımcı olmuştur. Kopolimer yapısında bulunan karbonil gruplarının kolaylıkla hidroliz olarak -COOH gruplarına dönüşerek üstün fizyolojik aktiviteyi verdiğini göstermiştir [7]. Özellikle MAdiğer birçok monomer sistemi ile elektron alıcı özelliği nedeniyle CTC

oluşturması; sulu ortamlarda kolaylıkla hidrolize olarak fizyolojik ortamlarda çözünürlüğünün olması özel bir monomer sistemi olduğunu gösterir.

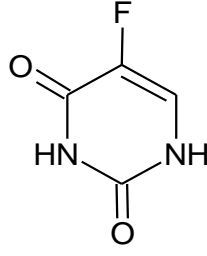
MA gibi farklı özelliklere sahip monomerin kontrollü polimerizasyon yöntemleri ile kopolimerizasyonu çok kullanılmayan bir tekniktir [149]. Kopolimer tasarımının ve sentezinin yanında, biyobozunur veya biyolojik ortama uygun, antitümör aktiviteye sahip kopolimer-ilaç konjugatının tasarımı, sentezi ve birçok özelliği ile karakterize edilen potansiyel bir polimer-ilaç yapısının elde edilebilmesi ifade edilebilmektedir [151].

İlaç taşıyıcı sistemlerden biri olan polimer-ilaç taşıyıcı sistemleri olarak suda çözünebilen özel fonksiyonel grupların bulunduğu taşıyıcıların özel polimerizasyon yöntemleri ile sentezlenmesi, karakterizasyonu ve 5-FU ile konjugasyonu bu çalışmanın en genel hedefi olarak ifade edilebilir. Bileşimi, yapısı ve fonksiyonel olarak kullanılması amacıyla iyi tanımlanmış polimer sistemlerinin tasarımı ve sentezi polimer kimyasal alanda oldukça ilgi görmektedir.

Günümüzde kanser hastalıklarının ilaçlar ile tedavisi yalnızca sitotoksik ilaçlarla değil aynı zamanda biyolojik ajanlar ve antikörlerle de mümkün olmaktadır. Kanser hastalığının terapi ilacı olan 5-FU florlanmış bir pirimidin analogudur (Şekil 2.23). 5-FU en geniş kullanım alanına sahiptir ve gerek tek bir ajan gerekse kombinasyonlu biçimde intravenöz olarak hastaya uygulanan antikanser ilaçlardan biridir. Başta yumurtalık kanseri olmak üzere, meme, akciğer, tiroid kanseri, yumuşak doku sarkomaları ve bazı tür lösemilerin tedavisinde kullanılır. Çarpıntı ya da ritimsiz kalp atışları, kalp yetmezliği gibi istenmeyen birçok yan etki 5-FU'da mevcuttur [152]. Bunun yanısıra ağız yaraları, sindirememesi, saç dökülmesi, el ve ayaklarda sorunlar diğer yan etkiler arasında yer almaktadır.

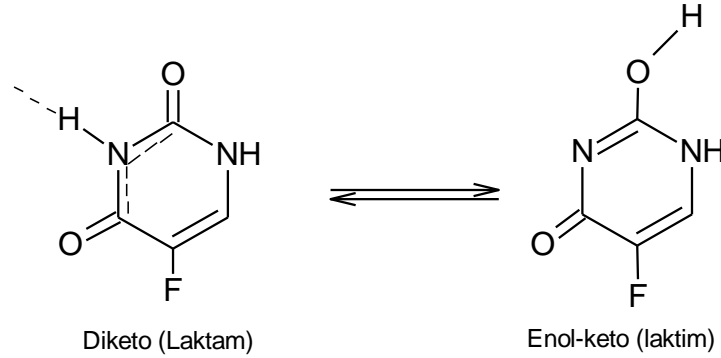
İlacın aktivitesini arttırmak ve istenmeyen yan etkilerinden kurtulmak/aza indirmek için biyolojik sistemlerde; polimer-ilaç konjugasyonu kullanılması mümkün olmaktadır [153].





Şekil 2.23. Kanser terapi ajanı 5-florourasil (5-FU).

5-FU yapısında bulunan alfa hidrojeni asidik özelliğe sahiptir ( $pK_a=7.26$ ) [154]. Böylece bu imin protonu başka bir proton akseptörü varlığında deproton olabilir. Eğer MA biriminde bulunan eterik oksijen akseptör olarak davranırsa, 5-FU'daki hidrojen, karbonil oksijenine transfer olur. 5-FU'nun  $\pi$ -konjuge sistemi, diketo (laktam) formundan enol-keto (laktim) formlarına değiştirerek genişletilir (Şekil 2.24) [155, 156].



Şekil 2.24. 5-Fu'nın  $\pi$ -konjuge sistemini genişleterek, diketo (laktam) enol-keto (laktim) formuna değiştirme önerilen mekanizması [155].

Bu tez çalışmasında suda çözünürlükleri, biyoyumlulukları, fonksiyonel grupları gibi birçok önemli özellikleri nedeniyle tercih edilen MA ve NVP monomerlerinin kullanılması ile CTC üzerinden kompleks radikal kopolimerizasyon çalışmasının ilk basamağında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın diğer kısmında ise; poli(MA-*ard*-NVP) kopolimeri 5-FU 1:1 molar oranlarda kullanılarak TEA reaksiyon katalizörü kullanılarak çözelti ortamında kovalent olarak konjugasyonu ve ürünün ortamdaki ortamdan yalıtılarak ayrılması

sağlanmıştır. Bu anlamda çalışmamız polimer-ilaç konusunda özel bir yer tutarak gerçekleşmesi ve sonuçlarının yayınlanması ile önemli bir bilgi kaynak olacaktır.

Tezin ikinci aşamasında poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerin 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) varlığında Nitroksit Aracılığıyla Kontrollü Polimerizasyonu (NMP) yapılmıştır. Kontrollü polimerizasyon tekniği ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimeri 5-FU 1:1 molar miktarlarda kullanılarak TEA reaksiyon katalizörü kullanılarak zlti ortamında kovalent şekilde konjugasyonu ve ürünün ortamdan yalıtılarak ayrılması sağlanmıştır.

## 3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

### 3.1. Kullanılan Maddeler

Çalışma kapsamında, kullanılan NVP Sigma-Aldrich firmasından alınmış ve destilasyon işlemi ile saflaştırma yapılmıştır. MA Sigma-Aldrich firmasından alınmıştır. MA saflaştırma işlemi susuz ve sıcak benzene çözeltisinde çözülerek 0-5 °C de buz banyosunda kristalizasyon yapılmıştır. Başlatıcı olarak kullanılan BPO, kloroform-metanol karışımı birbirini takip eden kristalleştirme ile saflaştırılmıştır. Çözücü ve çöktürücü olarak kullanılan *p*-dioksan, dietil eter ve DMF Sigma Aldrich'den saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Katalizör olarak trietilamin (TEA; Et<sub>3</sub>N) Sigma-Aldrich firmasından alınmış ve saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır. Kontrollü polimerizasyonda kullanılan, katalizör olarak kullanılan radikal tutucusu; 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) Sigma Aldrich'den temin edilerek saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

### 3.2 Sentez Yöntemleri

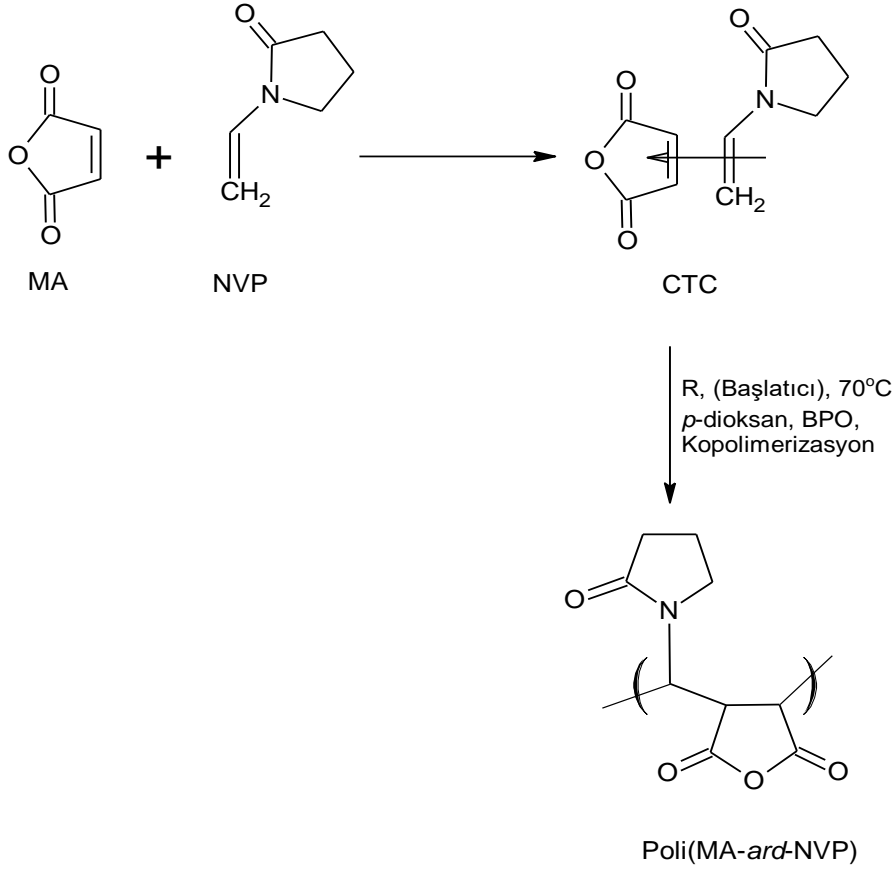
#### 3.2.1. Kompleks Radikal Kopolimerizasyon Yöntemi ile Poli(MA-*ard*-NVP)'in Sentezlenmesi

NVP (20 mmol) ve MA (20 mmol) farklı monomer besleme mol oranlarında (MA:NVP=20:80; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20) (Tablo3.1) ve klasik radikal başlatıcı (BPO) (0.0172 mmol) kullanılarak *p*-dioksan çözücüsünde çözelti polimerizasyonu yapılarak, CTC üzerinden kompleks radikal kopolimerizasyonu ile poli(MA-*ard*-NVP) kopolimeri sentezlenmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. MA ve NVP monomerlerinin CTC mekanizması ile ardışık kopolimerizasyon kodları ve monomer besleme oranları.

Örnek Kodu	NVP	MA
SH1 (MA- <i>ard</i> -NVP)	20	80
SH2(MA- <i>ard</i> -NVP)	40	60
SH3(MA- <i>ard</i> -NVP)	50	50
SH4(MA- <i>ard</i> -NVP)	60	40
SH5(MA- <i>ard</i> -NVP)	80	20

Tüm sentezlenen kopolimer reçetesi sabit tutulmuştur.



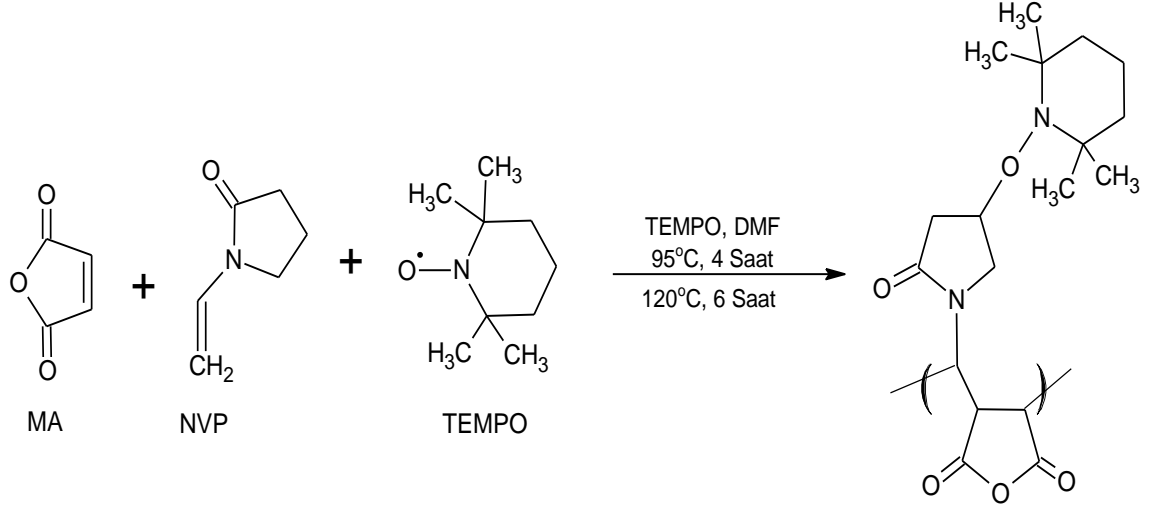
Şekil 3.1. MA ve NVP monomerlerinin CTC mekanizması ile ardışık kopolimerizasyon mekanizması.

Kopolimerizasyon reaksiyonunda;  $[\text{Monomer}]/[\text{Çözücü}]=0.25$ , reaksiyon süresi 4 saat ve ortam sıcaklığı 70 °C dir. Kopolimer izolasyon ve saflaştırma işlemleri ise sırasıyla dietil eterde, *p*-dioksan ve dietil eter kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen ardışık anhidrit içeren kopolimerler ayrılıp saflaştırma işleminin sonrasında sabit tartım işlemine kadar vakumda 40 °C de kurutularak toz formunda kullanıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.1). Sentezlenen kopolimer polimerizasyon verimi  $\leq 10\%$  olarak tutulmuştur.

### 3.2.2. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerin TEMPO Varlığında Nitroksit Aracılığıyla Kontrollü Polimerizasyonu (NMP)

NMP kopolimerizasyon reaksiyonunda; kompleks radikal kopolimerizasyon reçetesi ile benzer tutularak reaksiyon reçetesi kullanılmıştır. NVP (20 mmol) ve MA (20 mmol) (MA:NVP) (MA:NVP=20:80; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20 monomer besleme oranlarında ve klasik radikal başlatıcı (BPO) (0.24 mmol) ve nitroksit olarak

TEMPO kullanılarak DMF çözücüsünde çözelti kopolimerizasyonu yapılmıştır. Reaksiyonda [Monomer]/[Çözücü]=0.25 dir. Ortam sıcaklığı NMP tekniği nedeniyle ilk aşamada 95 °C de 4 saat, ikinci aşamada 120 °C deise 6 saat devam edilerek toplam 10 saat olarak sürdürülmüştür.



Şekil 3.2. MA ve NVP monomerlerinin NMP yöntemi ile polimerizasyon mekanizması.

Kopolimer izolasyon ve saflaştırma işlemleri ise sırasıyla dietil eterde, *p*-dioksan ve dietil eter kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen anhidrit içeren kopolimerler ayrılıp saflaştırma işleminin sonrasında sabit tartım işlemine kadar vakumda 40 °C'de kurutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.2). Sentezlenen kopolimer polimerizasyon verimi  $\leq 10\%$  olarak tutulmuştur (Tablo 3.2).

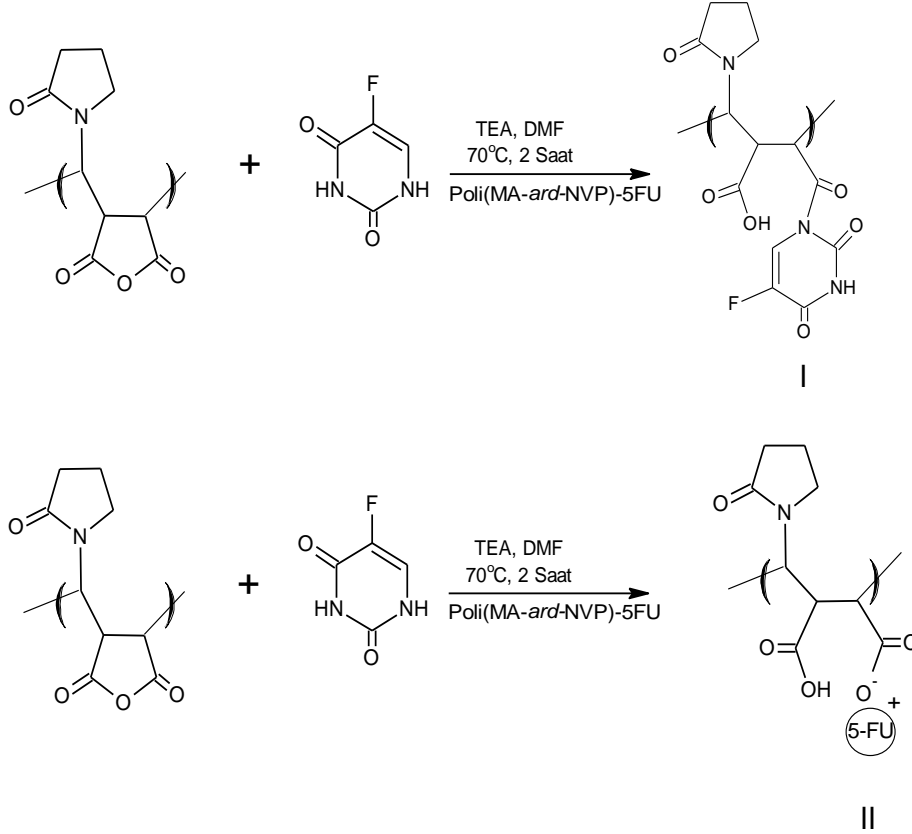
Tablo 3.2. MA ve NVP monomerlerinin NMP yöntemi ile hazırlanan ardışık kopolimerizasyon kodları ve monomer besleme oranları.

Örnek Kodu (MA-ard-NVP)	NVP	MA
SH1T	20	80
SH2T	40	60
SH3T	50	50
SH4T	60	40
SH5T	80	20

Tüm sentezlenen kopolimer reçetesi sabit tutulmuştur.

### 3.2.3. Kopolimer İlaç Konjugatlarının Sentezi

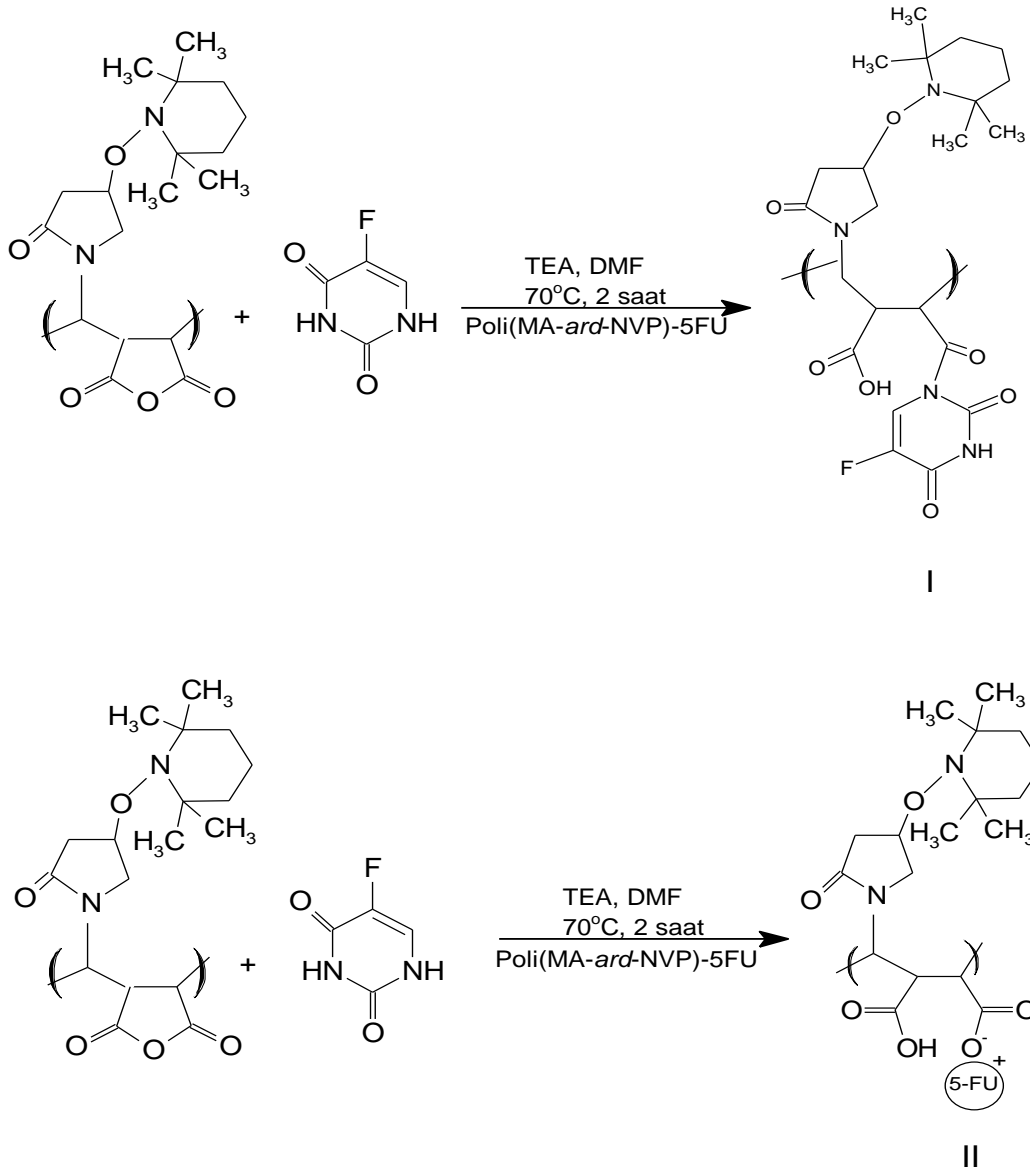
Polimer-ilaç konjugasyonu için; yük transfer kompleks kopolimerizasyon yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimer (1.33 mmol), DMF'de (20 mL) karıştırılarak çözülmüştür. İkinci adımda 5-FU (0.97 mmol) ve TEA (1.11 mmol) 5 mL DMF de çözülerek 70 °C de 1 saat sabit karıştırma hızında reaksiyona sokulmuştur. Hazırlanan poli(MA-*ard*-NVP) kopolimer çözeltisi damla damla 5-FU ve TEA çözeltisine eklenerek buz banyosunda 0 °C ve şiddetli karıştırma yaparak 2 saat boyunca reaksiyona devam edilmiştir. Elde edilen polimer-ilaç konjugatı 24 saat 0-4 °C tutulduktan sonra 40 mL dietil eter de çöktürülerek fazla TEA uzaklaştırılmıştır. İzole edilen ve saflaştırılan kopolimer-5-FU konjugatı vakumda 40 °C'de sabit tartıma gelene kadar kurutularak toz formunda kullanıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. 5-FU ile CTC yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması.

Konjugasyon için, NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerimizi (1.45 mmol), DMF'de (20 mL) karıştırma işlemi ile çözülmüştür. İkinci adımda 5-FU

(0.98 mmol) ve TEA (1.15 mmol) 5 mL DMF de çözülerek 70 °C de 1 saat sabit karıştırma hızında reaksiyona sokulmuştur. Hazırlanan poli(MA-*ard*-NVP) kopolimer çözeltisi damla damla 5-FU ve TEA çözeltisine eklenerek buz banyosunda 0 °C ve şiddetli karıştırma yaparak 2 saat boyunca reaksiyona devam edilmiştir. Elde edilen polimer-ilaç konjugatı 24 saat buzdolabında sakladıktan sonra 40 mL dietil eterde çöktürülerek fazla TEA uzaklaştırılmıştır. İzole edilen ve saflaştırılan Kopolimer-5-FU konjugatı vakumda 40 °C'de sabit tartıma gelene kadar kurutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Tablo 3.3).



Şekil 3.4. 5-FU ile NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması.

Tablo 3.3. Kompleks radikal kopolimerizasyon ve NMP yöntemi ile hazırlanan kopolimer ilaç konjugasyonuna kodları ve karıştırma oranları.

Örnek Kodu (MA-ard-NVP)	MA	NVP	5-FU	Yöntem
SH7	50	50	varlığında	CTC
SH10	50	50	varlığında	NMP

Tüm sentezlenen kopolimer reçetesi sabit tutulmuştur.

### 3.3. Analiz Yöntemleri

Sentezlenen fonksiyonel ardışık anhidrit içeren kopolimerleri yapı-özellikleri ve kompozisyon analizleri için, spektroskopik olarak ATR- FTIR Spektrumu, NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ve  $^{19}\text{F}$ ), HR-Raman, XRD, UV-Vis kullanılmıştır. Termal özelliklerin belirlenmesi için Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ve Termogravimetrik (TGA), malzemenin viskoelastik davranışını inelenmek amacıyla Dinamik Mekanik Analizleri (DMA) yöntemleri kullanılmıştır. Sentezlenen kopolimerlere ait sayıca ortalama mol kütlesi ( $M_n$ ) ağırlıkça ortalama mol kütlesi ( $M_w$ ) ve heterojenlik indeksi (PDI) belirlenmesinde ise; MALDI-TOF-MS kullanılmıştır. Elementel analiz yönteminde NVP biriminde vulunan N (azot) grubu kullanılarak her bir monomere ait reaktiflik oranları ( $r_1$  ve  $r_2$ ) hesaplanmıştır. Kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatına ait verim hesaplamalarında ise gravimetrik analiz kullanılmıştır.

#### 3.3.1. Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi Çalışmaları

Sentezlenen kopolimerin yapısal karakterizasyonu ve 5-FU konjugatını Nicolet IS 10 model ATR-FTIR spektrometre kullanılarak yapılmıştır. Spektrumlar 64 tarama ve  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlükle alınmıştır.

#### 3.3.2. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR ( $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ ve $^{19}\text{F}$ )) Spektroskopisi Çalışmaları

Kopolimerinin yapısal karakterizasyonu ve 5-FU konjugatını analizi amacıyla önce  $^1\text{H}$ -NMR analizleri yapılmıştır.  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları örnekleri *d*-DMSO içerisinde çözülerek  $25\text{ }^\circ\text{C}$  sıcaklığında Bruker 400 AV Ultrashield NMR



cihazı kullanılarak alınmıştır.<sup>19</sup>F-NMR spektrumları örnekleri *d*-DMSO içerisinde çözülerek 25 °C Bruker Biospin300 MHz Ultrashield NMR cihazını kullanarak alınmıştır.

### **3.3.3. HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları**

Kopolimerinin yapısal karakterizasyonu ve 5-FU konjugatının HR-Raman spektrumları Jobin-Yvon LabRam HR800 spektrometre kullanılarak elde edilmiştir. Bu cihaz, 632.8 nm'lik bir He-Ne lazer hattı olan bir yük çift (akuple) cihaz (CCD) dedektör donanımına da sahiptir. Toz haline getirilmiş numuneler mikroskop yardımıyla incelenmiştir. Lazer, bir mikroskop aracılığıyla (Olympus BX41) numune yüzeye odaklanmıştır.

### **3.3.4. X-ışınları Kırınımı (XRD) Çalışmaları**

Kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının analizi ve kristalinite tayini için toz örneklerden XRD desenleri alınmıştır. XRD desenleri Rigaku D-Max 2200 difraktometre kullanılarak elde edilmiştir. XRD difraktogramları, 2 $\theta$ 'de, 2-50° aralığında, Cu-K $\alpha$  gelen ışık dalga boyu  $\lambda = 1.54059 \text{ \AA}$  kullanılarak ölçülmüş ve bir Ni-filtre kullanılmıştır. Tarama hızı 1°/min'dir ve X-ışın tüplerinin voltajı ve akımı sırayla 40 kV ve 30 mA'dır.

### **3.3.5. Elementel Analiz Çalışmaları**

CHNS-932 Model LECO elementel analiz cihazı sentezlenmiş kopolimerde C, H ve N içeriğinin belirlenmesi için kullanılmıştır.

### **3.3.6. Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi Çalışmaları**

MA ve NVP monomerleri *p*-dioksan çözücüsünü kullanılarak 25°C sıcaklığında spektrumları, Hitachi 100-50 model UV-Vis spektrofotometre ile 200-350 nm dalga boyu aralığında alınmıştır.

### **3.3.7. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Çalışmaları**

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Cihazı (DSC); numune ısıtılırken, soğutulurken veya sabit bir sıcaklıkta tutulurken soğurulan veya salıverilen enerji miktarını ölçer. Bu teknikte, referans ile numuneden gelen veya uzaklaşan ısı farkı sıcaklığa veya zamana bağlı olarak gösterilir. Shimadzu DSC 60 H cihazıyla, 10 mL/dak akış hızında, azot ortamında 2-5 mg örnek ağırlıklarında örnekler kullanılarak analiz edilmiştir.

### **3.3.8. Termogravimetrik Analizleri (TGA) Çalışmaları**

Termogravimetri, genel olarak malzemelerde sıcaklığın veya zamanın bir fonksiyonu olarak meydana gelen kütle kaybı ve/veya kazanımlarının belirlenmesinde kullanılır. TGA analizleri Shimadzu DTG 60H cihazıyla, 10 mL/dak akış hızında, azot ortamında 5-8 mg örnek ağırlıklarında örnekler kullanılarak tayin edilmiştir.

### **3.5.9. Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Ölçümleri**

DMA malzemelerin üzerine belirlenen bir frekansta artıp azalan yük motoru kullanarak, malzemelerin viskoelastik özelliklerini ölçmektedir [157]. Sentezlenen örneklerin dinamik mekanik davranışları; TA Q800 Dinamik Mekanik Analiz cihazı kullanılarak incelenmiştir. Kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatları ile Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (50:50 ağırlıkça %) karışımları hazırlanarak TA Q800 Dinamik Mekanik Analiz cihazına yerleştirilmiştir. DMA eğrileri; sıcaklık aralığı örnek içerikleri ile değişken olarak 30°C'den 250 °C'ye 3°C/min sıcaklık tarama aralığında sabit frekansta ( $\omega = 1\text{Hz}$ ) alınmıştır.

### **3.5.10. Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) Çalışmaları**

MALDI-kütle spektrometrede kullanılan bir iyonizasyon tekniğidir. İyonizasyon lazer atışı yöntemi ile büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül gibi) analizini ve molekül ağırlığını tayin için kullanılır.

MALDI yüksek mol kütleli analitlerin desorpsiyonuna ve iyonlaşmasına olanak sağlar. TOF analizörü geniş bir kütle aralığında iyonları analiz etme yeteneğine sahip olduğundan MALDI tarafından üretilen yüksek kütleli iyonları analiz eder. MALDI örnekleri; matriks olarak adlandırılan küçük organik moleküller içeren bir çözücü içinde çözülerek hazırlanır. Bu moleküller kullanılan lazerin dalga boyunda güçlü bir absorpsiyona sahip olmalıdır. Çalışılacak analit için uygun matriks seçimi ve matriks oranının belirlenmesi MALDI-TOF-MS tekniğinin etkinliğini önemli ölçüde belirler [158].

Bu çalışmada 20 mg/mL derişiminde DCTB matriksi çözeltisi asetonitril: THF (1:1,v:v) içerisinde hazırlandı. 10 mg/mL derişiminde polimer örneği çözeltisi suda hazırlandı. Örnek ve matriks çözeltileri hacimce 1:5 (örnek:matriks) oranında karıştırıldı bu karışımın 1 uL'si MALDI plakası üzerine spotlandı. Yapılan analizlerde N<sub>2</sub> lazeri kullanıldı. Spektrumlar ortalama 500 lazer vuruşu sonucunda elde edildi. Tüm kütle spektrumları Applied Biosystems Voyager De-Pro MALDI-TOF-MS spektrometre cihazıyla elde edilmiştir. Örneklerin desorpsiyon ve iyonizasyonları 337 nm çıkışlı atımlı azot lazer (Spectra Physics, USA) kullanılarak 10<sup>-7</sup> Torr basınçta yapılmıştır. İyon ekstraksiyonu için 25 kV hızlandırma potansiyeli uygulanmıştır. Tüm ölçümler pozitif ve doğrusal modda ortalama 500 lazer vuruşuyla kaydedilmiş ve kalibre edilmiştir.

### **3.5.11. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları**

Floresans ölçümleri Perkin Elmer LS55 model Lüminesans spektrometresini ve FL Winlab yazılımını kullanılarak yapılmıştır. Bu deneyde 0.04 g/dL polimer derişimi kullanılmıştır. Floresans sinyalinin ısıl olarak oluşan emisyon hatlarından ayrılmasını sağlamak için, ışık örneğe bir ışık bölücü yardımı ile ve belirli bir frekansta gönderilir ve dedektör bu frekansa cevap verecek şekilde ayarlanır.

İlaç analizi, birçok organik aktif ilaç maddesinin floresansı yardımıyla yapılabilir. Bu çalışmada ilaç ve kopolimer arasındaki konjugasyon mekanizmasını aydınlatmak için ve ilacın kopolimere bağlanmasını ispatlamak için floresans spektroskopisi kullanılmıştır. Tutulan ilacını analiz edebilmek için standart ilaç etken maddesinden (5-FU) belirli derişimlerde çözeltide hazırlanmıştır. Uyarılma dalga boyu 374 nm, uyarma ve emisyon yarıkları 10 nm, ve tarama hızı 500 nm/dk seçilmiştir. Kullanılan

çözücünün floresans ölçümü yapıldıktan sonra örneklerin spektrumları alınmıştır. İlk başta saf 5-FU ve kopolimer çözeltilerinin emisyon spektrumları alınmıştır ve sonra kopolimer-ilaç konjugatının 2-3 emisyon spektrumları alınmıştır.

### **3.5.12. Polimer ve Polimer-İlaç Konjugatının Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi**

Bu çalışmada sentezlenen polimer, polimer-ilaç ve bu yapıların hücrelerin canlılığına etkisinin araştırılması için Saos-2 hücreleri kullanılarak dsDNA analizi yapılmıştır. Öncelikle, SH3, SH3T, SH7, SH10 ve 5FU polimer ve ilaç çözeltileri %10 fetal bovine serum (FBS), %1 P/S, %1 NEAA ve %0,1 AMP-B içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) içinde çözülmüştür. Daha sonra her bir örnek, 24 kuyulu kültür kaplarına, n=4 olacak şekilde konulmuş ve kuyulara hücre sayısı 30000 hücre/10µL olacak şekilde Saos-2 hücreleri ekilmiştir. Hücreler 7 gün boyunca, standart kültür koşullarında (% 5 CO<sub>2</sub> - % 95 hava) inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince her gün pipet yardımıyla çözelti süspansiyon edilmiştir. İnkübasyonun sonunda hücrelerin üzerindeki besiyerleri aspire edilmiş ve 1 mL PBS ile yıkama yapıldıktan sonra 500 µL, %0,1 Triton-X çözeltisi konulup 5 dakika beklenmiştir. Pipet ucu yardımıyla kuyunun dibindeki hücreler kazınarak hücre süspansiyonu 1,5 mL sentrifüj tüpüne aktarılmıştır. Mikroskop altında incelenen kuyuda hücre gözlenmesi durumunda işlem tekrarlanmış ve tekrar 500 µL, %0,1 Triton-X çözeltisi konularak kazıma yapılmıştır. Sonuçta her kuyudan 1 mL hücre süspansiyonu toplanmıştır. Toplanan hücre süspansiyonları ölçümler yapılana kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir [158, 159]. DNA proliferasyonu ölçümü için öncelikle örnekler -80°C'den çıkartılıp, çözündürülmüş ardından vorteksten geçirilerek karışma sağlanmıştır. Daha sonra aşağıda belirtilen kit protokolü uygulanmıştır.

1. Örnek Hazırlanması: Örneklerden 25 µL alınmış ve 1X TE buffer ile hacim 50 µL'ye tamamlanmıştır.

2. Standart Hazırlanması: 10 µL dsDNA standardı 90 µL, 1X TE buffer'la dilute edilerek 10 ng/ µL standart hazırlanmıştır. Daha sonra 96 kuyulu kültür kaplarına 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 µL olacak şekilde standart konularak hacim 1x TE buffer ile 50 µL'ye tamamlanmıştır.

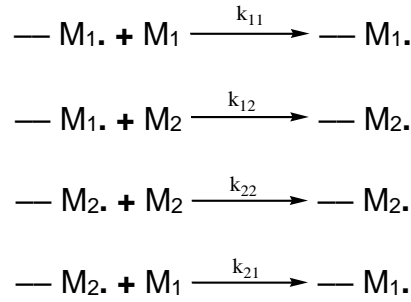
3. dsDNA Boya Eklenmesi: Örnek ve standartların bulunduğu tüm kuyucuklara, ışıksız ortamda, 50 µL 2X dsDNA boya eklenmiş ve 5 dakika boyunca, oda sıcaklığında, çalkalayıcı yardımıyla karıştırılmıştır.

Ex/Em=480/530 nm olacak şekilde florasan okuyucuda okuma yapılmış ve veri analizi yapılmıştır.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Kimyasal başlatıcıların kullanıldığı radikalik kopolimerizasyon ortamında  $M_1$  ve  $M_2$  simgeleriyle gösterilen polimerleşmeye yatkın iki monomer bulunursa, başlatıcıdan oluşan serbest radikallerin bu monomerlere etkisiyle ilk aktif birimler oluşur. Monomerik aktif birimler her iki monomeri de katabilecekleri için polimerizasyon sisteminde aşağıda verilen dört olası büyüme tepkimesinin ilerlemesi beklenir [87].



Burada  $M_1.$  ve  $M_2.$  reaksiyon süresince büyümekte olan zincir radikalleridir. Bu radikaller için yeni monomer moleküllerinin katılma hızının sadece radikal zincirinin sonundaki gruba bağlı olduğunu kabul ederek dört türlü çoğalma reaksiyonu yazılmıştır. Kopolimer reaksiyonunda, büyümekte olan kopolimer zincirinin kimyasal reaktifliği sadece zincirin ucundaki monomer birimine bağlıdır. Hız sabiti  $k_{11}$  ile verilen ilk tepkime ucu  $M_1$  monomerinden türemiş bir radikal olan zincirin  $M_1$  monomerini katmasını,  $k_{12}$  sabitiyle verilen ikinci tepkime aynı zincirin diğer monomeri ( $M_2$ ) katmasını gösterir. Benzer yorumlar  $M_2$  monomerinin büyüme tepkimeleri içinde geçerlidir. Büyüme tepkimelerinden ikisi homopolimerizasyon tepkimesidir (birinci ve üçüncü tepkime). Bu tepkimeler radikal türlerinin sayısını ve bağıl oranlarını değiştirmezler. Diğer ikisi de (ikinci ve dördüncü tepkime) toplam radikal sayısı değişmez, ancak her bir aktif tür diğer monomeri kattığı için radikal türlerinin oranı değişmektedir [160].

Kopolimerizasyona yönelik kinetik eşitlikler çıkarılırken radikalik homopolimerizasyonda yapılan varsayımlara benzer bazı varsayımlar yapılır. Aktif polimer zincirlerinin aktivitesinin zincir boyundan bağımsız olduğu varsayımdır. Bu varsayımla, her boy zincirin vereceği büyüme tepkimesi hız sabitleri birbirine

eşitlenir ve tek bir hız sabiti ile gösterilir. Ayrıca monomerlerin yalnızca büyümekte olan uzun aktif polimer zincirleri tarafından harcandığı varsayılarak başlama adımında harcanan monomer miktarı göz önüne alınmaz. Büyüme tepkimeleri için kullanılan hız ifadeleri,

$$\text{Hız}_1 = k_{11} [M_{1\cdot}] [M_1]$$

$$\text{Hız}_2 = k_{12} [M_{1\cdot}] [M_2]$$

$$\text{Hız}_3 = k_{21} [M_{2\cdot}] [M_1]$$

$$\text{Hız}_4 = k_{22} [M_{2\cdot}] [M_2]$$

olarak belirlenir.  $M_1$  türündeki radikaller hız sabiti  $k_{21}$  olan üçüncü reaksiyonla ve ayrıca başlama reaksiyonu ile oluşur. İkinci reaksiyonla ve radikal sonlanma reaksiyonları ile yok olur. Kararlı halde bu tür radikallerin meydana gelme ve yok olma hızları eşit olacaktır. Kararlı durumda zincir radikal sayısı değişmemektedir [160]. Yani zincir radikalleri kayboluş ve oluşum hızları eşittir. Zincirler uzun ise, başlama ve sonlanma olayları, büyüme denklemlerindekilerle kıyasla önemini yitireceği için, kararlı hal koşulu;

$$k_{21} [M_{2\cdot}] [M_1] = k_{12} [M_{1\cdot}] [M_2]$$

$M_1$  ve  $M_2$  monomerlerinin harcanma hızları büyüme tepkimelerinden;

$$-d[M_1]/dt = k_{11} [M_{1\cdot}] [M_1] + k_{12} [M_{1\cdot}] [M_2]$$

$$-d[M_2]/dt = k_{22} [M_{2\cdot}] [M_2] + k_{21} [M_{2\cdot}] [M_1]$$

bağıntıları ile yazılır. Bu iki hız ifadesinin oranlanmasıyla;

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1]}{[M_2]} \left( \frac{k_{11} [M_{1\cdot}] + k_{21} [M_{2\cdot}]}{k_{12} [M_{1\cdot}] + k_{22} [M_{2\cdot}]} \right)$$

Şeklinde monomer birimlerinin harcanma hızı oranını veren ilişki elde edilir. Harcanan monomerler kopolimer yapısında yer alacağı için, bu oran aynı zamanda elde edilecek olan kopolimer bileşimine karşılık gelir.  $d[M_1]/d[M_2]$  ifadesindeki ölçülemeyecek/belirlenemeyecek değerler olan  $[M_{1\cdot}]$  ve  $[M_{2\cdot}]$  derişimlerini yok

etmek için kararlı hal (steady-state assumption) ilişkisinden yararlanır. Kararlı hal koşullarında  $M_1$ . ve  $M_2$ . radikal türlerinin derişimi ve bağıl miktarları değışmez. Dolayısıyla her iki radikalin oluşma ve harcanma hızları birbirine eşittir [160].

$$-d[M_1.]/dt = -d[M_2.]/dt = k_{12}[M_1.][M_2] - k_{21}[M_2.][M_2] = 0$$

$$[M_1.] = (k_{21}[M_2.][M_1]) / (k_{12}[M_2])$$

Şeklinde genel bağıntıda yerine koyulursa bağıntısında kullanılmasıyla  $d[M_1]/d[M_2]$  oranı için aşağıdaki bağıntıya geçilir.

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1]}{[M_2]} \left( \frac{\frac{k_{11}}{k_{12}} [M_1] + [M_2]}{[M_1] + \frac{k_{22}}{k_{21}} [M_2]} \right)$$

Bağıntısı elde edilir. Son eşitlikte yer alan  $k_{11}/k_{12}$  ve  $k_{22}/k_{21}$  oranları ayrıca;

$$r_1 = k_{11}/k_{12}$$

$$r_2 = k_{22}/k_{21}$$

Şeklinde reaktivite oranları olarak tanımlanır. Genel ifade tekrar düzenlenirse kopolimer bileşimi eşitliği türetilmiş olur.

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1]}{[M_2]} \left( \frac{r_1 [M_1] + [M_2]}{[M_1] + r_2 [M_2]} \right)$$

Kopolimer eşitliğiyle sentezlenecek kopolimerin reaktivite oranlarına ve başlangıçta alınan (veya ortamda bulunan) monomer derişimlerine bağılı olarak bileşimi hesaplanır.

Kopolimerizasyon denkleminin sol tarafındaki  $d[M_1]/d[M_2]$  terimi, reaksiyona girmemiş bulunan monomerlerin oranı  $[M_1]/[M_2]$  olduğunda, meydana gelen kopolimere giren iki monomerin oranını gösterir. Her iki monomere ait reaktivite oranlarının sıfıra eşit veya yakın olması halini ( $r_1 \approx r_2 \approx 0$ ) incelendiğinde;  $k_{11}/k_{12} \approx k_{22}/k_{21} \approx 0$  ( $k_{12} \gg k_{11}$  ve  $k_{21} \ll k_{11}$ ) ilişkisi geçerlidir ve aktif merkezler her zaman diğerk tür monomeri katma eğilimindedirler.  $M_1$  ve  $M_2$  monomerleri zincir boyunca



değişmeli dizilirler ve bir ardışık (alternating) kopolimer elde edilir. Kopolimer eşitliğinin  $r_1 \neq 0$  ve  $r_2 \neq 0$  kullanılarak yeniden yazılmasıyla elde edilen;

$$d[M_1]/d[M_2]=1$$

Bağıntısından monomer derişimlerinin kopolimer derişimlerini etkilemediği görülmektedir. Monomerlerin kopolimer içerisindeki oranları polimerizasyonun her aşamasında aynıdır [160].

#### 4.1.1. Poli(MA-ard-NVP) Kopolimerizasyon Bileşiminin ve Reaktiflik Oranlarının Bulunması

Elementel analiz sonuçları kullanılarak; poli(MA-ard-NVP) kopolimerin kompozisyonu aşağıdaki Eşitlik 1 yardımıyla bulunmuştur. MA-NVP monomer birimlerin molar derişimler cinsinden monomer besleme oranları Tablo 4.1 içinde SH1, SH2, SH3 SH4 ve SH5 isimleri ile verilen kopolimerler ( $M_1$  (NVP) ve  $M_2$  (MA)) 5 farklı kompozisyonda verilmiştir. Elementel analiz verileri; monomerlerdeki NVP birimine ait olan N, azot içeriği kullanılarak aşağıdaki eşitliğe (1) göre hesaplanmıştır [161].

$$m_1 = M_2 / [(A_N/B) - \Delta M \cdot 10^{-2}] \dots \dots \dots (1)$$

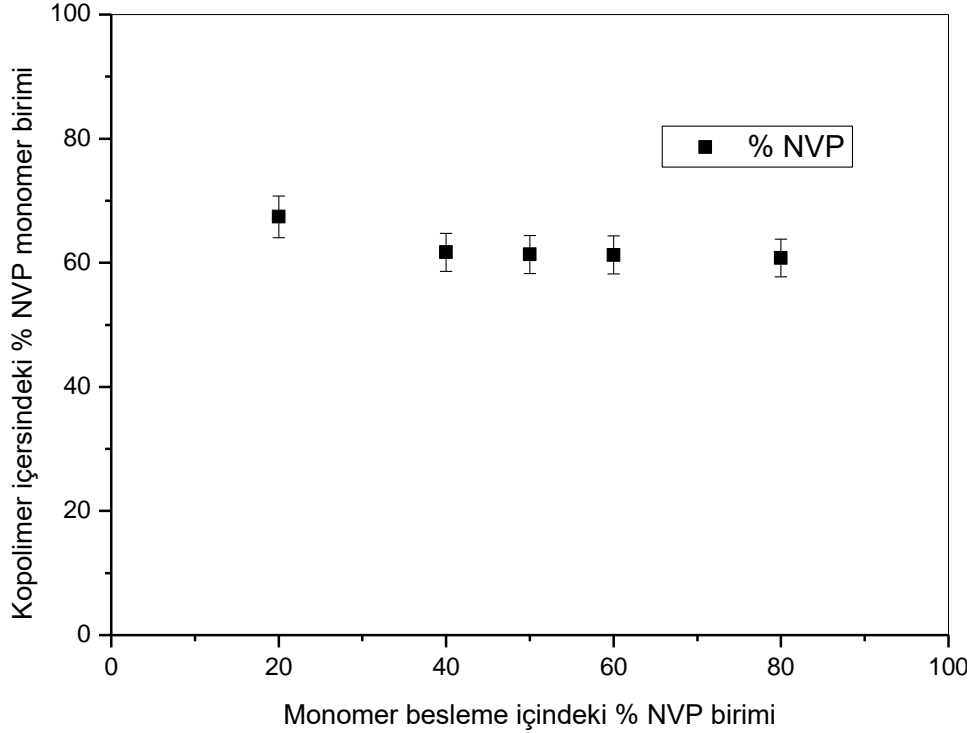
$A_N$ , azot (N) atomun mol kütlesi; B ise kopolimerlerde N (azot) içeriğidir (%);  $\Delta M = M_1 - M_2$  olarak hesaplama yapılmaktadır.

Tablo 4.1. Beş farklı kompozisyondaki poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerine ait elementel analiz, polimerizasyon verimi ve kopolimerizasyon kompozisyonu.

Monomer besleme oranı [M <sub>1</sub> ]:[M <sub>2</sub> ] NVP:MA	Elementel Analiz (%)			Polimerizasyon verimi (%)	Kopolimer kompozisyonu [m <sub>1</sub> ]:[m <sub>2</sub> ] NVP:MA
	C	H	N		
SH1	48.5	5.78	4.41	5.45	69.64 30.36
SH2	49.80	5.79	5.14	5.70	62.13 37.86
SH3	50.26	5.77	4.79	6.34	64.72 35.27
SH4	50.75	6.04	5.20	2.83	61.39 38.60
SH5	50.06	6.03	5.26	8.79	61.12 38.72

Kopolimerizasyon reaksiyonlarında % verim  $\leq 10$  olarak sentezler yapılmıştır.

Kopolimerizasyon yönteminde; kompozisyonuna ait özelliklerin hesaplanmasında % polimerizasyon verimi  $\leq 10$  düşük tutularak; düşük verim için geçerli olan eşitlikler kullanılmıştır. Tablo 4.1'den elde edilen kopolimer kompozisyonuna bağlı olarak NVP birimi göz önünde bulundurularak Tablo 4.1'de çizilmiştir.



Şekil 4.1. MA:NVP monomer besleme oranında 25 °C, *p*-dioksan içerisinde sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin kompozisyonu (MA:NVP): oranları 80:20, 60:40, 50:50, 40:60 ve 20:80).

Monomer besleme ve kopolimer içerisindeki NVP birimleri içerisinde genel olarak gözlenen ardışık kopolimer yapılarının göstermiş olduğu eğilimi göstermektedir [160].

Kopolimere ait NVP ve MA monomer birimlerine ait reaktivite oranları; monomer besleme oranları ve kopolimer oranları kullanılarak bilinen lineer yöntemlere göre Kelen-Tüdös [KT] (2) [162], Mayo-Lewis [ML](3)[83], Fineman-Ross [FR](4)[163], ve Inverted Fineman-Ross[IFR] (5) hesaplanmıştır.

$$\eta = (r_1 + r_2/\alpha) \xi - r_2/\alpha \dots \dots \dots (2)$$

$$r_2 = f \left( \frac{r_1 f + 1}{F} - 1 \right) \dots \dots \dots (3)$$

$$G = r_1 H - r_2 \dots \dots \dots (4)$$

$$\frac{G}{H} = -r_2 \left(\frac{1}{H}\right) + r_1 \dots \dots \dots (5)$$

Yukarıda verilen eşitlikleri kullanmak için, Tablo 4.2’de eşitliklerde kullanılan ilgili değerler hesaplanarak verilmiştir. Kelen-Tüdös (KT)(2) kopolimer bileşimindeki simetrik olmayan karakteri önlemek amacıyla yeni parametreler,  $\xi$  ve  $\alpha$  tanımlanmıştır. Kelen-Tüdös (KT) (2), Mayo-Lewis (ML)(3), Fineman-Ross (FR)(4), Inverted Fineman-Ross (IFR)(5) eşitlikleri kullanılarak grafikler elde edilmiştir ve hesaplanan değerler Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Farklı kompozisyona sahip poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerine ait Fineman-Ross, Kelen-Tüdös, Mayo-Lewis ve Inverted Fineman-Ross eşitliklerini kullanılması için hazırlanan büyüklükler.

Monomer besleme oranı [M1]:[M2] NVP:MA	$F = \frac{M1}{M2}$	$f = \frac{m1}{m2}$	$G = \frac{F(f-1)}{f}$	$H = \frac{F^2}{f}$	$\alpha + H$	$\eta = \frac{G}{\alpha + H}$	$\xi = \frac{H}{\alpha + H}$	$\frac{G}{H}$	$\frac{1}{H}$
SH <sub>1</sub>	0.25	2.29	0.140	0.027	0.553	0.253	0.049	5.147	36.76
SH <sub>2</sub>	0.666	1.64	0.260	0.270	0.796	0.326	0.339	0.962	3.70
SH <sub>3</sub>	1	1.83	0.453	0.546	1.072	0.422	0.509	0.829	1.831
SH <sub>4</sub>	1.5	1.59	0.556	1.41	1.936	0.287	0.728	0.394	0.709
SH <sub>5</sub>	4	1.57	1.57	10.19	10.71	0.135	0.950	0.142	0.098

(Kopolimerizasyon Verim  $\leq 10\%$ )

F: monomerin besleme içindeki mol kesri

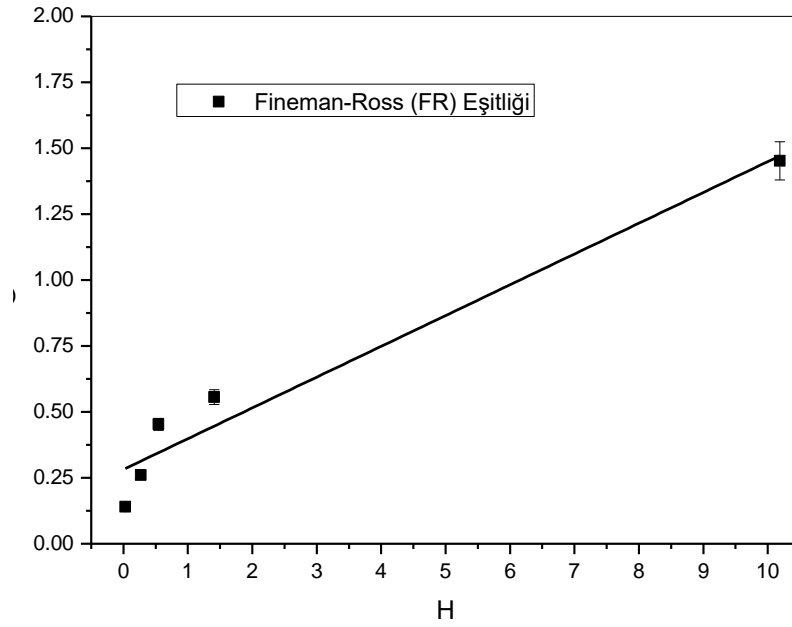
f: monomerin kopolimer içindeki mol kesri

$$\alpha = \sqrt{H_{max}H_{min}} = 0.526$$

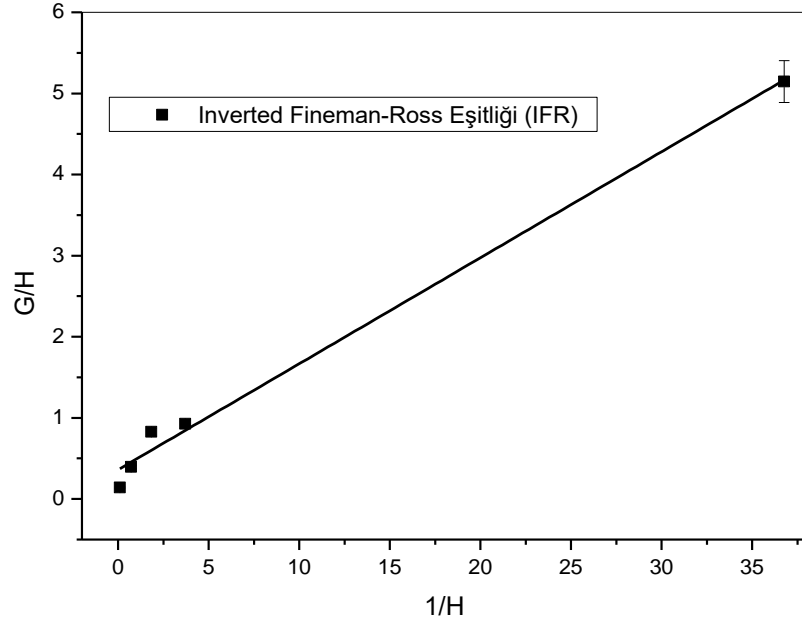
$\alpha$  parametresi  $\eta$ - $\xi$  eksenleri boyunca verilerin daha homojen dağılımını gösteren bir değerdir. Inverted-FR denkleminde (5)  $r_1$ , kesim noktasından ve  $r_2$  ise eğimden

bulunmuştur. Denklem kullanılarak G değerlerine karşı H değerlerinin grafiği çizildiği zaman eğim  $r_1$ , kesim ise  $r_2$  değerini verir. KT eşitliğinde kullanılan  $\alpha$  değeri genellikle  $\alpha > 0$  dir.

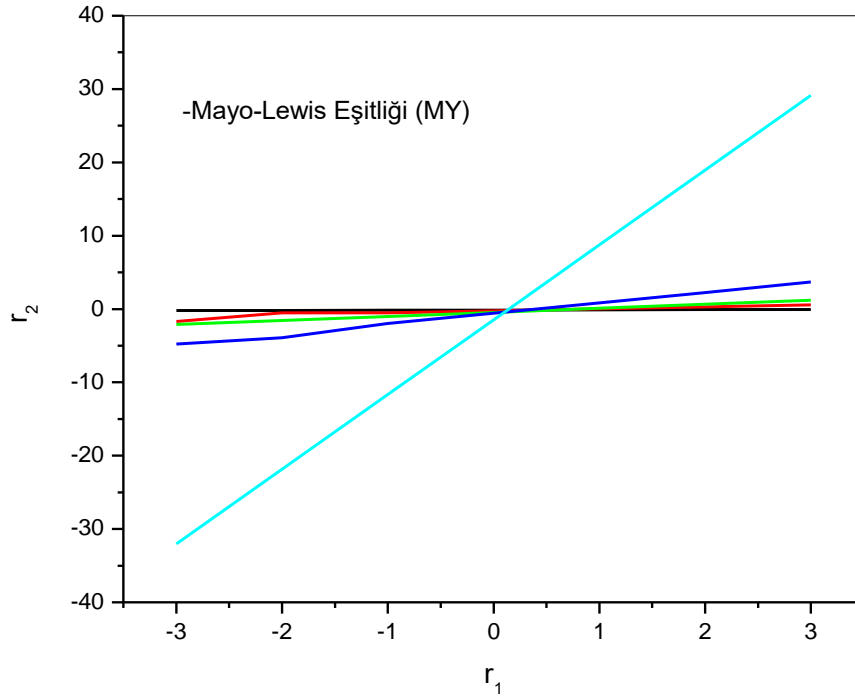
Deneysel verilerden hesaplanan  $\xi$  değerlerine karşı  $\eta$ 'nin grafiği çizildiğinde  $r_1$  ve  $r_2$  değerleri eğim ve kesim noktalarından bulunmaktadır. Kelen-Tüdös (KT) (2) , Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) yöntemleri kullanılarak çizilen grafikler ve elde edilen reaktivlik oranları Tablo 4.3 'te özetlenmiştir.



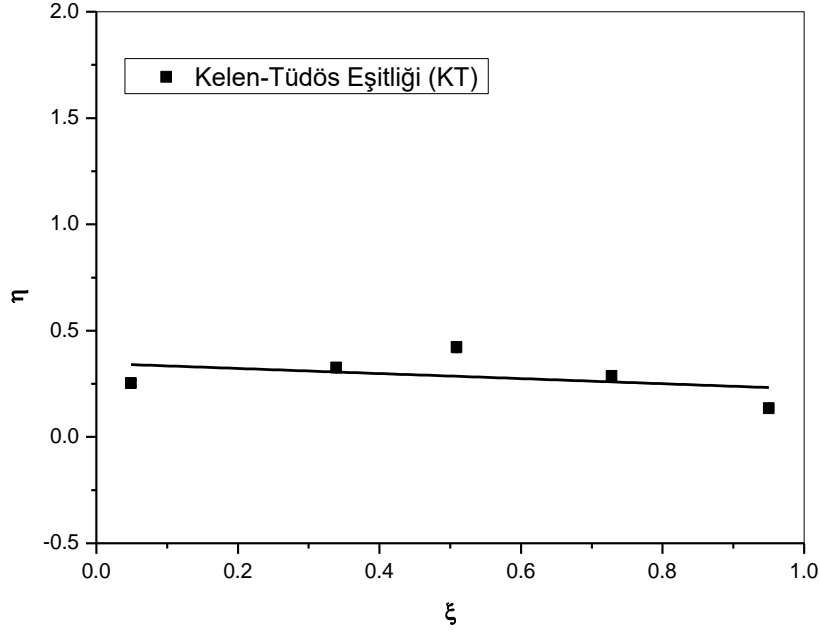
Şekil 4.2. Finemen-Ross (FR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.



Şekil 4.3. Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.



Şekil 4.4. Mayo-Lewis (ML) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.



Şekil 4.5. Kelen-Tüdös (KT) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.

Poli(MA-*ard*- NVP) kopolimerine ait reaktivlik oranlarının Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliklerine göre elde edilen değerler incelendiği zaman ML, FR ve IFR yönteminden elde edilen reaktivlik oranlarının birbirleri ile uyumlu ve doğrusal eğilim gösterdikleri gözlenmiştir. KT eşitliğinin kullanılarak çizilen grafik doğrusal davranış grafik göstermemektedir (Korelasyon katsayısı  $R^2=0.158$ ). Ancak kullanılan yöntemlerden biri olması nedeniyle; sonuçlar arasında değerlendirilmiştir [164].

Kopolimerizasyon sistemlerinde monomer reaktivlik oranları hangi monomerin değerine göre polimer zinciri içerisinde daha istemli olarak bulunacağını göstergesi olarak alınmaktadır. Ancak bunun yanında  $r_1.r_2$ 'de kopolimerizasyon kompozisyonu ve bileşimine dair önemli bir diğer değerlendirme bilgisi vermektedir.  $r_1.r_2$  çarpımlarının 0 yakın olduğu sistemlerde ardışık kopolimer yapısına uymaktadır.

KT, FR, ML ve IFR yöntemlerinin her birinden elde edilen deneysel sonuçları incelediğimiz zaman; 0.042; 0.032; 0.0103 ve 0.110 sırasıyla elde edilmiştir. Kopolimerizasyon sistemimizin ardışık kopolimer sistemi olarak değerlendirmemizde önemli bilgiler vermektedir.

Tablo 4.3. Poli(MA-ard-NVP) kopolimerine ait reaktiflik oranlarının Kelen-Tüdös (KT) , Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliklerine göre hesaplaması.

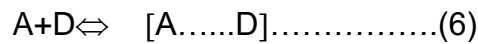
Kullanılan Yöntemler	$r_1$ (NVP)	$r_2$ (MA)	$r_1 * r_2$	$\frac{1}{r_1}$	$\frac{1}{r_2}$	$R^2$
ML	$0.131 \pm 0.096$	$0.101 \pm 0.159$	0.013	7.63	9.90	0.999
FR	$0.116 \pm 0.012$	$0.281 \pm 0.061$	0.032	8.62	3.55	0.672
IFR	$0.361 \pm 0.106$	$0.130 \pm 0.006$	0.110	2.77	3.25	0.785
KT	$0.346 \pm 0.096$	$0.120 \pm 0.159$	0.0421	2.89	8.33	0.158

Farklı yöntemlerden elde edilen reaktiflik oranları incelendiğinde; kopolimer sentezinde NVP monomerin MA monomerine göre reaktiflik oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Kopolimerizasyonda zincir büyüme basamaklarındaki NVP monomerine ait olan birimler daha istemli olarak kopolimer zincirine ilave edilir, devamında ise MA ait monomer birimleri, -MA•'e ilave edilir ve kopolimerizasyon bu şekilde devam eder.

#### 4.1.2. Yük Transfer Kompleksi (CTC) Oluşumu

Monomerleri fonksiyonel gruplarına ve ikili bağların konjugasyonuna bağlı elektron alıcı (A) - elektron verici (D) monomer sistemleri olarak gruplandırmak mümkündür [110]. CTC elektron alıcı-verici monomerlerin arasındaki polarite farkı nedeniyle oluşan elektron transferi sonucu oluşmaktadır.

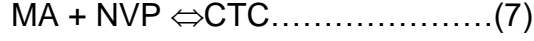
Oluşan yük transfer kompleksi elektron alışverişinin ölçüsü denge oluşum sabiti ( $K^{AD}$ )dir.



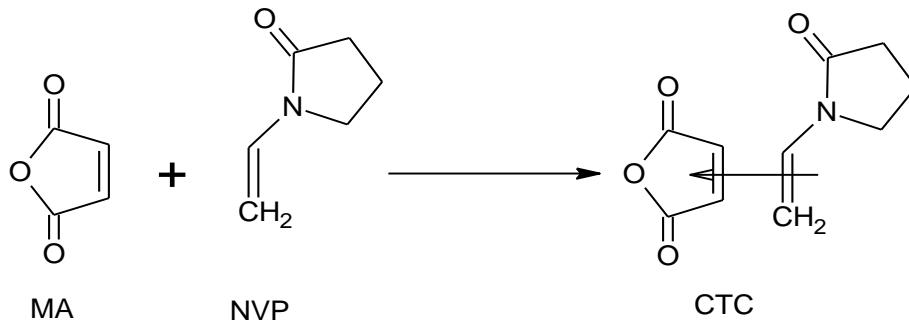
CTC komplekslerinin saptanması ve denge sabit değerlerinin bulunması; elektron alıcı-verici yapıdaki ikili ve üçlü monomer sistemlerinin kompleks-radikal

kopolimerizasyonu yönteminin, belirlenen kompozisyon, yapı ve özelliklerde fonksiyonel makro moleküllerin sentezi için çok önemli ve gerekli olan bilgilerdir.

MA ve NVP sistemi için CTC düşünülürse;



Burada; [CTC], [MA] ve [NVP] elektron alıcı (A) monomer MA, elektron verici monomer NVP ve oluşan CTC derişimleri olarak ifade edilmektedir (Şekil 4.6).

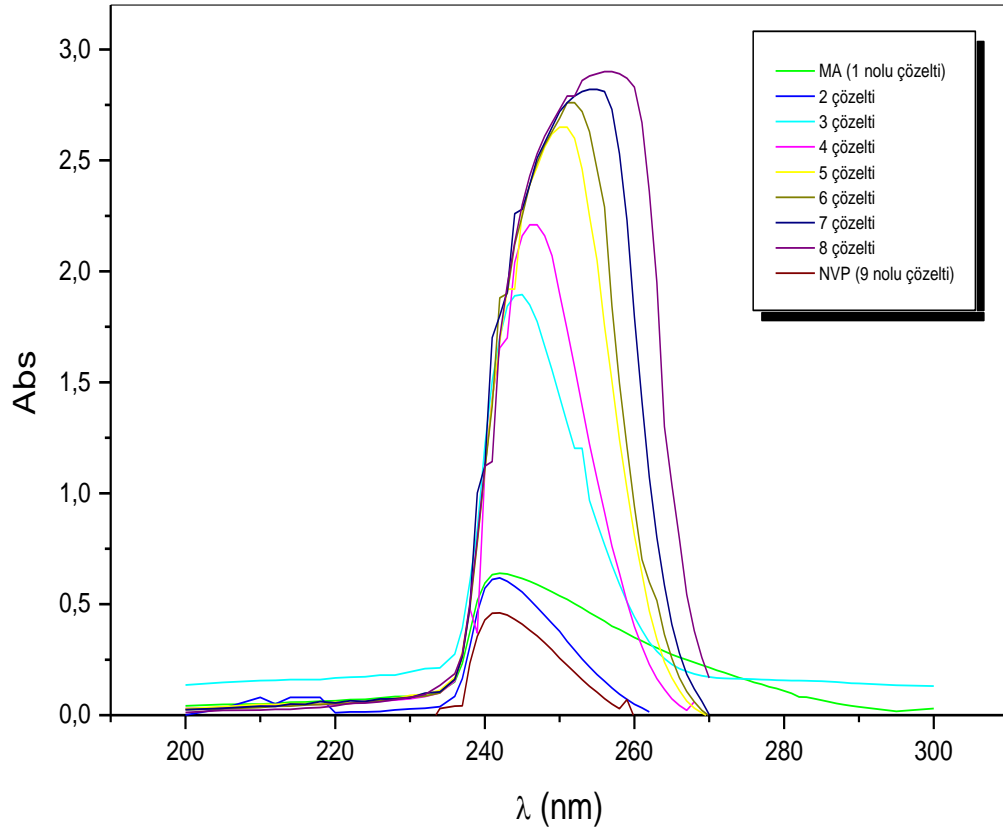


Şekil 4.6. MA ve NVP monomerlerin arasında oluşan CTC kompleksinin şematik olarak gösterimi.

Elektron alıcı-verici monomerlerin radikal polimerizasyonunda yer almalarıyla bu sistemlerin incelenmesi (1), kopolimer kompozisyonunun nasıl planlanabileceği (2), moleküler mikro yapının nasıl planlanabileceği konularını anlamamıza izin vermektedir. Bunlar düşünülerek belirlenen kompozisyon ve spesifik özelliklere sahip yeni reaktif kopolimerler/terpolimerler sentezlenebilmektedir.

Elektron-alıcı monomerleri olarak maleik asit türevlerini ve elektron-verici monomerler olarak vinil monomerlerini içeren ikili monomer sistemleri diğer çok bileşenli monomer sistemleri radikal kopolimerizasyonun serbest ve kompleks oluşturmuş monomerler ile yürümesi açısından farklılık göstermektedirler ve bu sistemlerin kinetik davranışlarında, iki kompleksomerin kopolimerizasyonu dikkate alınmaktadır.





Şekil 4.7. MA-NVP monomer sisteminin oluşturduğu kompleksinin UV-Vis spektrumu ( $\lambda_{\max}=242$  nm, çözücü; *p*-dioksan, sıcaklık;  $25\pm 0.1$  °C monomer derişimleri;  $[MA]/[NVP]=5\times 10^{-4}$  mol/L (Çözelti 1-9: karışma oranları 1:0; 1:1;1:3,1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:25 ve 0:1).

Elektron alıcı-verici yapıdaki monomerlerle oluşturulan sistemlerin radikal polimerizasyonu çalışmaları monomerlerin ardışık kopolimerizasyonlarındaki zincir büyümelerinin mekanizması hakkında çok değerli bilgilere ulaşılmasını sağlamaktadır.

CTC ve denge sabiti UV-Vis ve NMR [165, 166] gibi spektroskopik yöntemlerle bulunabilir. Çözeltide renk değişimi, yeni absorpsiyon bantlarının oluşumu veya mevcut bantların maksimumlarındaki kayma, elektron alıcı-verici monomer çiftleri arasındaki kompleksi UV-Vis spektrumunda gözlenmektedir [160]. MA ve NVP arasında radikal kopolimerizasyon kompleks-radikal kopolimerizasyon mekanizması tarafından gerçekleşmektedir.

Farklı polarite özelliğine sahip monomerdeki (MA; -C=O elektron çekici ve NVP; -C=C) ikili bağlar moleküller arası alıcı-verici etkileşimi ile denge CTC oluşturmuştur.  $\pi(-C=C) \longrightarrow \pi(-C=O)$  oluşan güçlü CTC seçilen monomer özelliklerinin ölçüsü olarak kompleks oluşumuna etki etmektedir. Kompleksin oluşumunun tespiti için 242 nm dalgaboyunda *p*-dioksan çözücüsü kullanılarak MA-NVP monomer ( $5 \times 10^{-4}$  mol/L) karışımı ile UV-Vis spektrumu alınmıştır (Şekil 4.7).

Elektron alıcı-verici sistemden oluşan kompleksin kompleks denge sabiti ( $K^{AD}$ ) ve molar absorpsiyon katsayısı ( $\varepsilon^{AD}$ ) farklı doğrusal eşitlikler kullanılarak hesaplanmaktadır. Çalışma kapsamında Scott [24] eşitliğinin kullanılması ile bulunabilmektedir.

Verilen tüm bu yöntemlerde, donör monomer fazla kullanıldığında eşitlikler kullanılabilir.  $[D] \gg [A]$  ve  $[D] \approx [D_0]$  olmalıdır. Bu yöntemlerde; oluşan kompleksin ve başlangıç monomerlerin derişimleri kullanılarak absorpsiyon değerleri ölçülür.

$$\frac{[D_0][A_0]}{A} = \frac{[D_0]}{\varepsilon^{AD}} + \frac{1}{(\varepsilon^{AD} K^{AD})} \dots\dots\dots(9)$$

Eşitlik içerisinde;

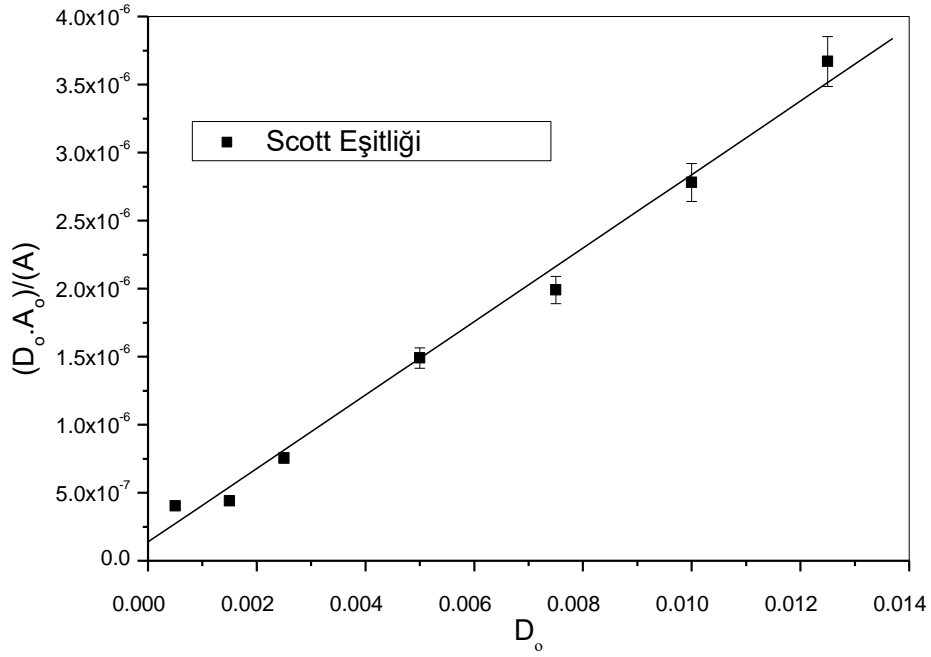
A= CTC absorpsiyonu

[A<sub>0</sub>]= Elektron alıcı monomer başlangıç derişimi

[D<sub>0</sub>]= Elektron verici monomer başlangıç derişimi

K<sup>AD</sup>= CTC oluşumu denge sabiti

$\varepsilon^{AD}$ = CTC absorpsiyon katsayısını göstermektedir.



Şekil 4.8. MA-NVP monomer sisteminin oluşturduğu CTC için Scott grafiği.

MA-NVP monomer sisteminin oluşturduğu kompleksinin UV-Vis spektrumu  $\lambda_{max}=242$  nm, Çözücü; *p*-dioksan, sıcaklık;  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$  monomer derişimlerinde  $[\text{MA}]/[\text{NVP}]=5 \times 10^{-4}$  mol/L 1:0; 1:1;1:3;1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:25; 0:1 karışma oranları ile hazırlanmış ve oluşan kompleksin ve absorbans değişimi Şekil 4.7’de görölmektedir.

MA monomer biriminin maksimum absorpsiyon dalga boyu 242 nm’de gözlenmiştir (çözelti 1). NVP monomer biriminin miktarının kompleksin artması ile birlikte absorbans değerleri yükselmiştir.

Scot eşitliği kullanılarak elde edilen denge sabiti,  $K^{AD}=0.0004$  ve molar absorpsiyon katsayısı,  $\epsilon^{AD}=9041,6$  olarak bulunmuştur. Sonuçlara baktığımızda elektron verici (NVP) konsantrasyonunu sabit ve elektron alıcı (MA) konsantrasyonunu arttırarak absorpsiyonun şiddetinde artışını gözlenmiştir.

CTC oluşumuna ait standart serbest enerjisi ( $\Delta G^\circ$ ), Scott eşitliğinden elde edilen  $K^{AD}=0.0004$  değeri kullanılarak hesaplama yapılmıştır [167].

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K^{AD} \dots \dots \dots (10)$$

Eşitlikte;  $\Delta G^\circ$ , oluşan CTC serbest enerjisi (kcal/mol), R ideal gaz sabiti (1.98722 cal/mol K), T sıcaklık Kelvin cinsinden (298 K) kullanılmıştır. Bu hesaplama sonucu

$\Delta G^\circ$  serbest enerji ( $\Delta G^\circ = -4.633$  kcal/mol  $\Delta G^\circ < 0$ ) negatif değere sahip olması sistemin bu sıcaklıktaki kompleks oluşumunun istemli olarak gerçekleştiğini göstermektedir.

Bulunan bu sonuçlar  $D^+ + A^-$  arasındaki kompleksin zayıf doğasını göstermektedir. Kompleksin zayıf yapıda olması radikalik türlere olan geçişi daha kolay olmaktadır. Kompleks oluşumuna bağlı olan geçiş enerjisi  $E^{AD}$ ; Briegleb [168] eşitliğine göre hesaplanmaktadır.

$$E^{AD} = 1243.667 / \lambda_{CTC} \text{ (nm)} \dots \dots \dots (11)$$

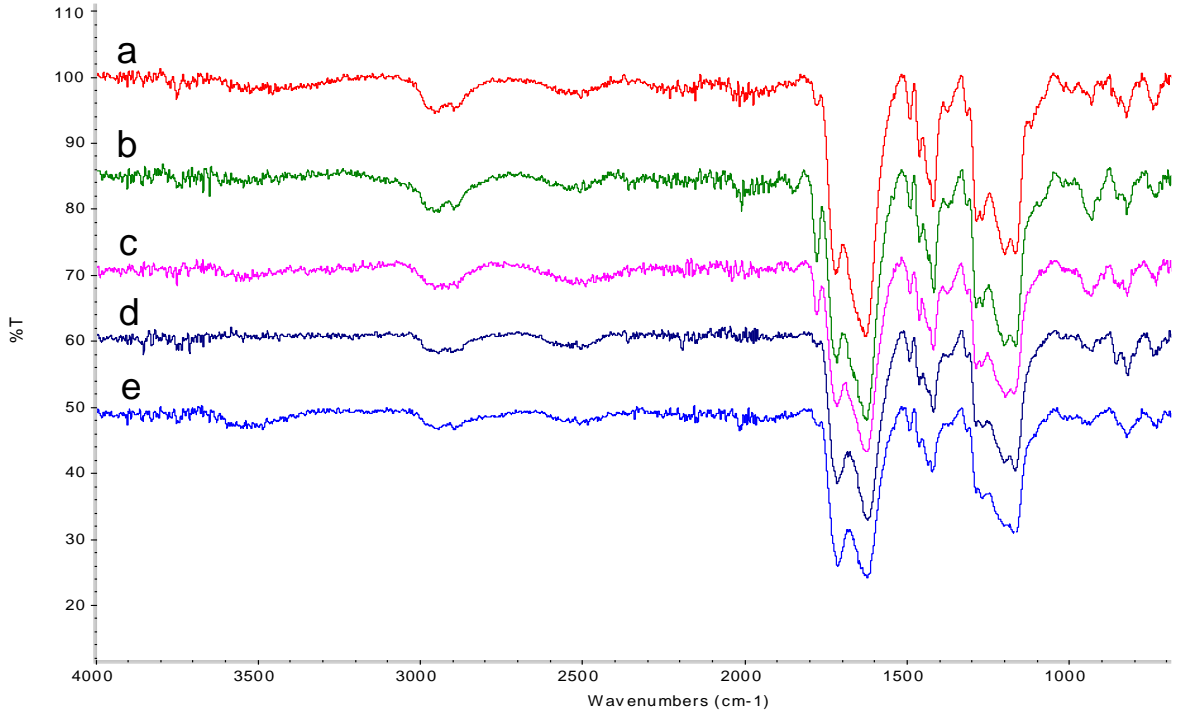
Eşitlik 11'e göre hesaplanan geçiş enerjisi;  $E_{CTC} = 5.139$  ev olarak hesaplanmıştır. Çift bağ-fonksiyonel grup konjugasyon karakteri dikkate alındığında, çalışılan monomer çifti verici (NVP)-alıcı (MA) monomer sistemleri arasındaki geçişler  $\pi(C=C) \leftarrow \delta(N) \leftarrow \pi'(C=O)$  (NVP) ve  $\pi(C=C) \rightarrow \pi'(C=O)$  (MA) olarak sınıflandırılabilir.

#### 4.1.3. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının ATR-FTIR Analizi

Sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (ardışık kopolimerin) ATR-FTIR spektroskopisi ile farklı monomer besleme oranlarına sahip MA ve NVP'a ait absorpsiyon bantları ile incelenerek karakterize edilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10).

Şekil 4.9-10'da farklı monomer besleme mol oranlarında yapılan deneylerde ATR-FTIR spektrumları (MA:NVP=80:20; 60:40; 50:50; 40:60; 20:80) verilmiştir.

Kopolimer ait -C-N gerilme bandı  $3423 \text{ cm}^{-1}$ , alifatik C-H gerilme bandı  $2916 \text{ cm}^{-1}$  de,  $3100 \text{ cm}^{-1}$ 'de ise N-H karakteristik bantları görülmektedir. Monomer birimlerine ait pikler detaylı olarak incelendiğinde ise önemli bantlar şu şekilde verilebilir. MA'deki anhidrit halkasına ait  $1839$  ve  $1779 \text{ cm}^{-1}$  civarındaki şiddetli absorpsiyon bandı görülmektedir [169].



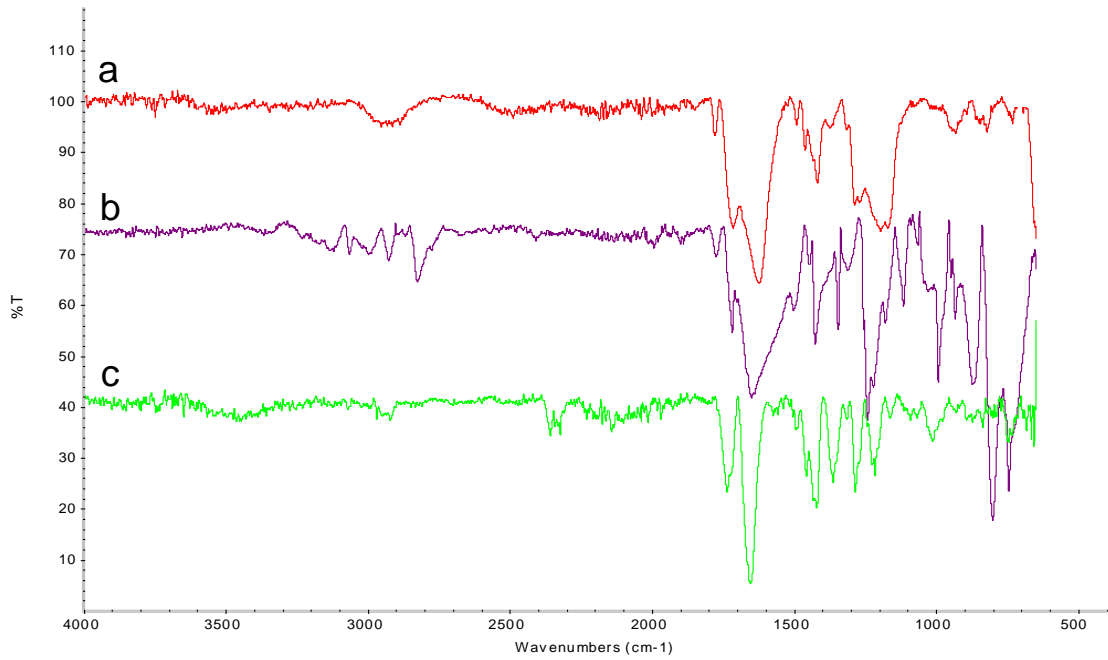
Şekil 4.9. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 oranında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerine ait üst üste ATR-FTIR spektrumu.

NVP'deki  $-C=O$  bandına ait  $1646\text{ cm}^{-1}$ 'de ve  $1734\text{ cm}^{-1}$  dalga boylarında görülen absorban bandı NVP ait olan karbonile ait pikleri göstermektedir ve ayrıca  $1717\text{ cm}^{-1}$  ise NVP ye ait 5'li laktam halkasının varlığını da kanıt olarak düşünülmektedir.  $1750\text{ cm}^{-1}$ 'de ise NVP ait  $-C=O$  gruplarının ile ait komşu C-H bağlarına ait intramoleküler H bağı etkileşimi gözlenmektedir.  $1425\text{ cm}^{-1}$ 'de NVP dan gelen;  $1447\text{ cm}^{-1}$ 'de ise kopolimere ait  $-C=O\dots N$  kompleks yapılarından kaynaklanan pikler gözlenmektedir.

NVP ait RCONHR' amit pikine dair olan pikler  $1405\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N gerilmesi;  $1530-1570$  arasında ikinci amit bandı ve  $3440\text{ cm}^{-1}$ 'de ise N-H gerilme bantları görülmüştür.  $1100\text{ cm}^{-1}$ 'de ise C-O-C'ye ait eterik gerilme bantları gözlenmiştir.  $1820\text{ cm}^{-1}$ 'de ise anhidrit birimlerine ait reaksiyona girmeden kalan anhidrit karbonilleri bulunmaktadır [170]. Polimer ana zinciri üzerindeki C-C gerilme bantları ise  $950\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmektedir [171]. Fonksiyonel gruplara sahip suda çözünür özellikteki anhidrit içeren kopolimerlerin oluşturdukları yapıların içerisinde en iyi sonuçlar yapının 50:50 besleme oranında sentezlenen kopolimere aittir. FTIR spektrumunda (Şekil 4.9) gözlenen karakteristik bazı bantların kayması, yeni bantların oluşumu ve

şiddetlerinin takip edilmesi ile açıklanabilmektedir. Sentezlenen kopolimere ait bantların şiddetlerindeki değişim özellikle 1600-1800  $\text{cm}^{-1}$  bölgelerinde olan değişiklikler en fazla 50:50 besleme oranında gözlenmiştir. Kopolimerin yapısı değişen monomer besleme oranlarında ATR-FTIR spektrumları ile doğrulanmıştır [9, 126].

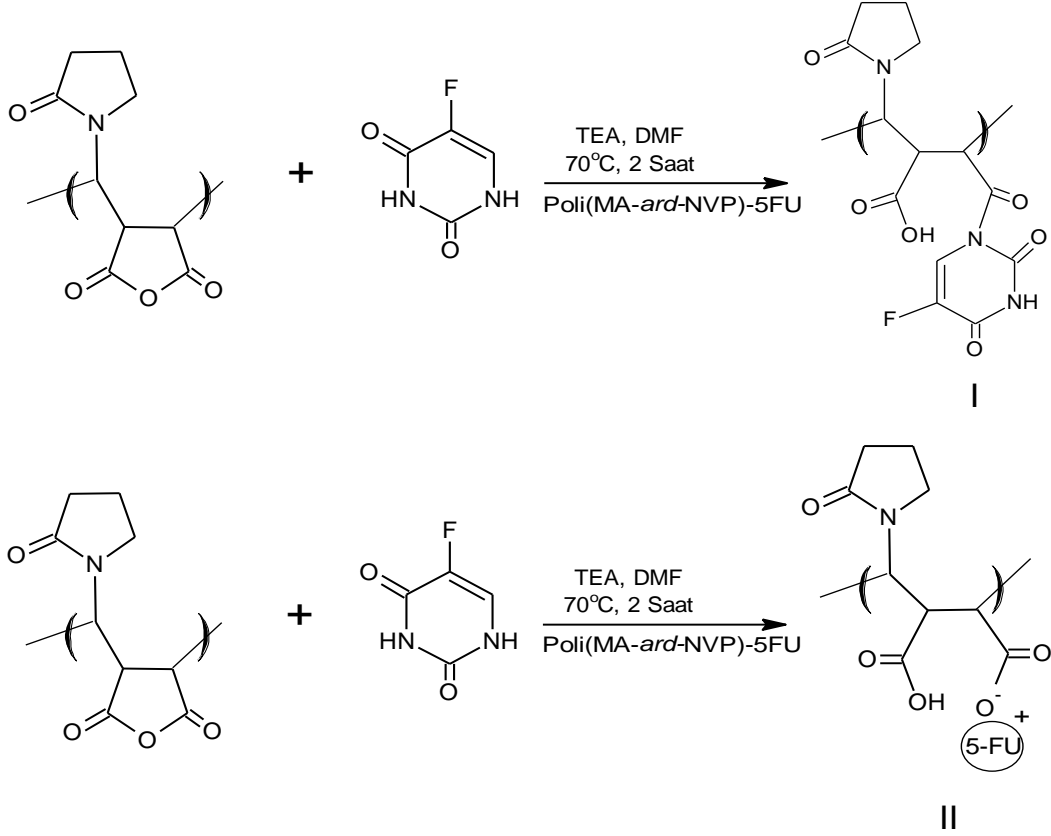
Yapısal karakterizasyonu ATR-FTIR ile yapılan kopolimer yapısı trietilamin (TEA) katalizörü varlığında kimyasal olarak modifiye edilerek polimer-ilaç konjugatı hazırlanmıştır. Bu polimer-ilaç konjugatının analizi amaçlı kopolimer, 5-FU ve polimer-5-FU konjugatının (Şekil 4.10). ATR-FTIR spektrumları incelenerek yapısal analizi ve bağlanma mekanizması önerilmiştir. 5-FU'ya ait 986  $\text{cm}^{-1}$ 'de  $-\text{CH}=\text{CF}-\text{C}=\text{O}$  trans pozisyonundaki şiddetli düzlem dışı eğilme pikleri; 1213  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O; 1234  $\text{cm}^{-1}$ 'de HC=C-F; 1647  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-N; 1721  $-\text{C}=\text{O}$  ve 3173  $\text{cm}^{-1}$ 'de ise N-H bantları görülmüştür.



Şekil 4.10. a) Poli(MA-ard-NVP) (50:50), b) 5-FU ve c) kopolimer-ilaç konjugatına ait ATR-FTIR spektrumu.

Konjugasyonda sonra kopolimer ve 5-FU ya ait olmayan güçlü iyonik etkileşim ve/veya amitleşme ( $-\text{CONHR}$ ) reaksiyonu (Şekil 4.11) sonucu yeni oluşan pikler

önerilen mekanizma için önemli bulgular olarak değerlendirilmiştir.  $1456\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N kuvvetli bükülme ve C-N'ait  $2361\text{ cm}^{-1}$ 'de ise orta şiddetli pikler görülmüştür [172]. Ayrıca konjugatın yapısında  $990\text{ cm}^{-1}$ 'de 5-FU dan gelen  $-\text{CH}=\text{CF}-\text{C}=\text{O}$  trans pozisyonundaki şiddetli düzlem dışı eğilme pikleri görülmektedir.

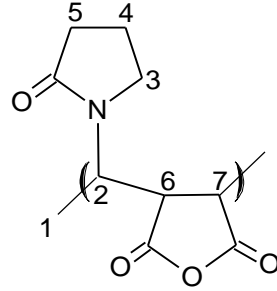


Şekil 4.11. Kanser terapi ajanı 5-FU ile poli(MA-ard-NVP)(50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması.

$3550\text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan yeni; O-H gerilmesi moleküllerarası polihidroksi yapısına ait O-H gerilmesi görülmektedir. Keskin kabul edilebilecek bu bant polimerlerde bulunan -OH zincir uzunluğuna bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca  $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen geniş pik H- bağlı olan polimerik yapılardaki -NH veya  $-\text{CONH}_2$  olarak ifade edilebilmektedir. Bu bölgede ayrıca karbonil bantlarına ait ( $1600-1900\text{ cm}^{-1}$  arasında) absorpsiyon bantlarının katlı tonları bulunabilir (Şekil 4.10).

#### 4.1.4. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>1</sup>H-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

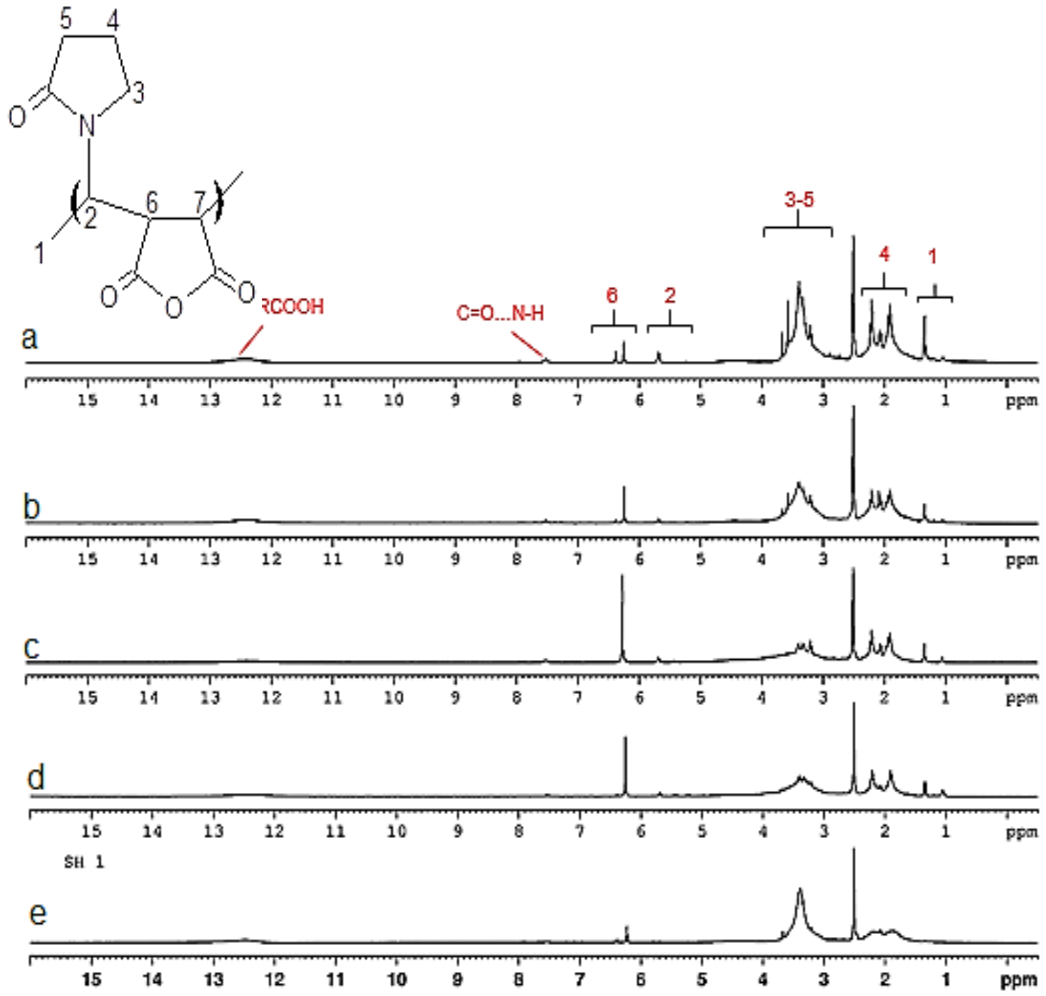
Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerin yapısal karakterizasyonu amacıyla önce <sup>1</sup>H-NMR spektrumu alınmıştır. Polimerler ve kopolimer-ilaç konjugatının analizi *d*-DMSO'da yapılmıştır. Şekil 4.12-4.16'de farklı monomer besleme oranlarında sentezlenen kopolimerlere ait yapı analizi için temel fonksiyonel grupların <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda gözlemlendiği kimyasal kayma (ppm) değerleri incelenmiştir.



Şekil 4.12. Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin H (hidrojen) atomlarının işaretlenmiş şekli.

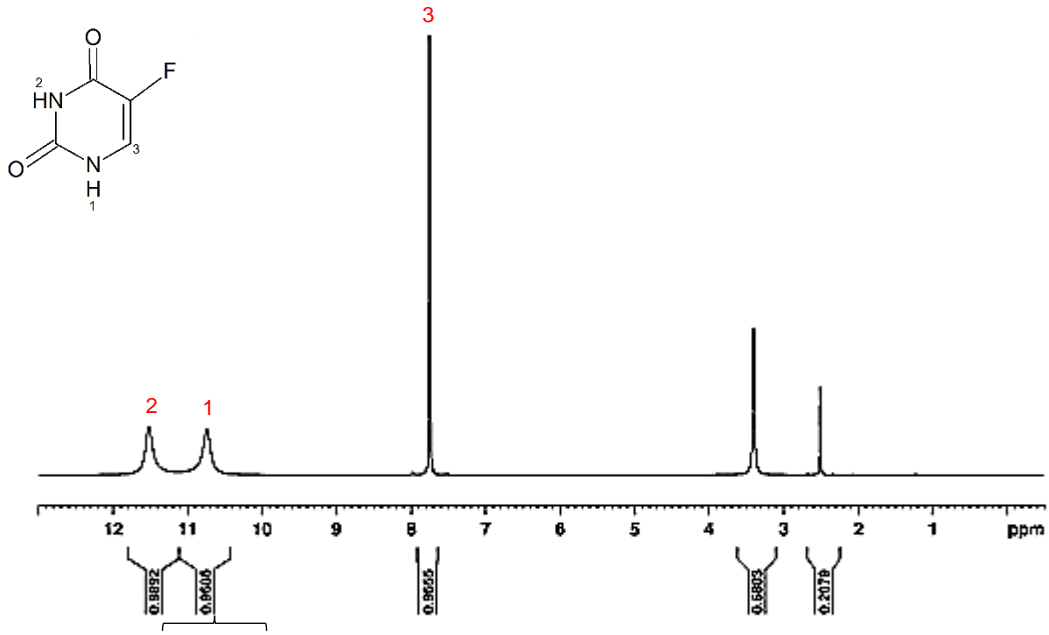
Kopolimer yapının <sup>1</sup>H-NMR ile aydınlatılması amacıyla Şekil 4.12'de işaretlenerek verilmiştir. Monomer besleme oranları göz önüne alınarak yapılan karakterizasyon yapılmıştır. Buna göre; NVP monomer birimine ait 1H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>:1.30-1.60 ppm aralığında; 4H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 1.80-2.33 ppm; 3-5H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 2.80-3.95 ppm; 2H  $\delta$  -CH: 5.4-5.8 ppm; C=O...N-H  $\delta$  7.5 ppm kimyasal kaymalar izlenmiştir. MA birimine ait 6,7  $\delta$ -CH: 6.3 ppm de ve ayrıca MA biriminin kısmi hidrolizi nedeniyle H-NMR spektrumunda  $\delta$  12.4 ppm civarında RCOOH' a ait piki görülmüştür (Şekil 4.14). Kopolimer sentezi içinde monomer besleme mol oranlarının değişimi <sup>1</sup>H-NMR ile takip edilmiştir. Karakteristik piklerin yerleri ve şiddetleri monomer miktarına bağlı olarak değişmiştir.





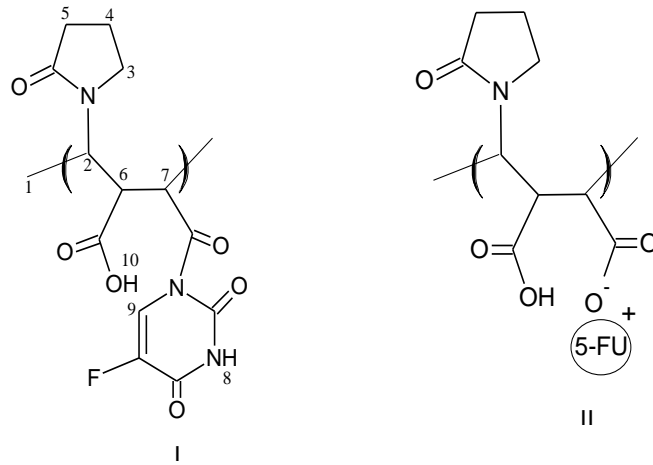
Şekil 4.13. MA:NVP=(a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

Kopolimer-ilaç konjugasyon ve bağlanma şekli <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. 5-FU ilacına ait önemli pikler şu şekilde (Şekil 4.15) verilmiştir. 1H δ N-H:10.80 ppm; 3H δ CH=CF: 7.76 (dublet) ve 2H δ N-H: 11.60 ppm [173]. δ 2.5 ppm *d*-DMSO piki ve δ 3.5 ppm deki pik *d*-DMSO içindeki suya aittir.

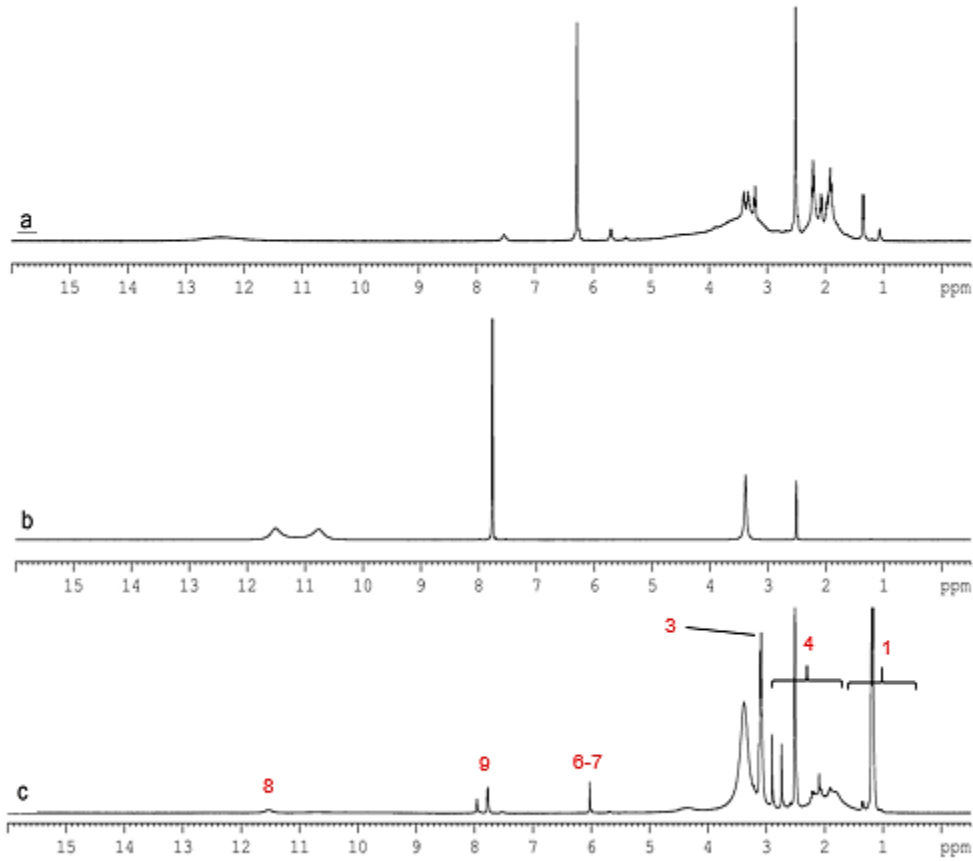


Şekil 4.14. 5-FU ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

Polimer ve kanser tedavi ilacı olan 5-FU konjugasyonu; kopolimer serisi içerisinde en uygun besleme oranına sahip olan 50:50 kopolimeri alınarak reaksiyon TEA varlığında gerçekleştirilmiştir. Yapı-özellik ve modifikasyonun gerçekleştiği mekanizmanın bulunması amacıyla <sup>1</sup>H-NMR detaylı olarak incelenerek aşağıda önemli kimyasal kaymalar verilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. Poli(MA-ard-NVP)-5-FU konjugatına ait protonların işaretlenmiş hali.

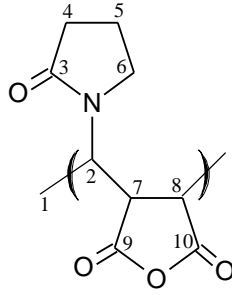


Şekil 4.16. (a) Poli(MA-ard-NVP) (50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

Modifikasyon sonrasında kopolimer-ilaç konjugatına ait önemli kimyasal kayma değerleri şu şekilde verilebilir. 5-FU'ya ait 9H  $\delta$  CH=CF: 7.8 ppm; 8H  $\delta$  N-H: 11.5 ppm, NVP birimine ait 1H  $\delta$  CH<sub>2</sub>:0.9-1.4 ppm; 4H  $\delta$  CH<sub>2</sub>:1.7-2.4 ppm; 3-5H  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 2.5-3.2 ppm; MA birimine ait; 10 H  $\delta$  C-OH: 3.5 ppm; 6-7 H  $\delta$  -CH: 6.02 ppm. Bu sonuçlara göre; önerilen mekanizma amitleşme üzerinden gitmektedir. Kopolimer ve 5-FU orijinal piklerinin kimyasal kayma değerleri değişime çok fazla uğramayarak pik şiddetlerinde değişimler gözlenmiştir (şekil 4.16) [174, 175].

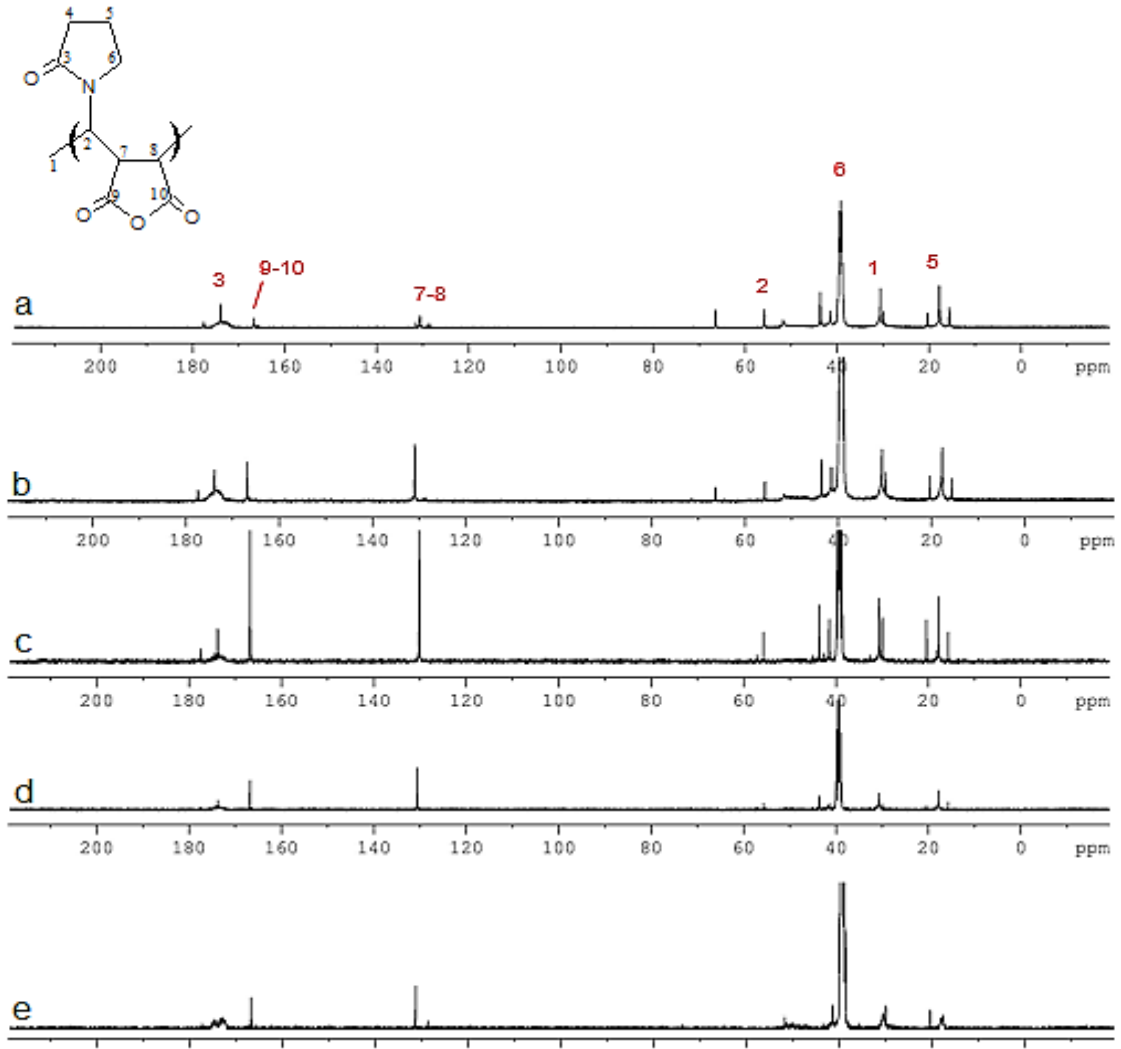
#### 4.1.5. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının<sup>13</sup>C-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerin yapı-özellik karakterizasyonu amacıyla önce <sup>13</sup>C-NMR spektrumu alınmıştır. Polimerler ve diğer bütün sentezlenen türlerin maddelerin analizi *d*-DMSO'da yapılmıştır. Şekil 4.17-4.22'de kadar farklı monomer besleme oranlarında sentezlenen kopolimerlere ait yapı analizi için temel fonksiyonel grupların <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda gözlemlendiği kimyasal kayma (ppm) değerleri incelenmiştir.



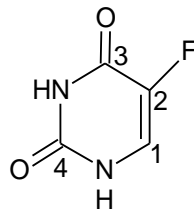
Şekil 4.17. Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş şekli.

NVP birimine ait <sup>13</sup>C-NMR piklerinin kimyasal kayma sonuçları aşağıda verilmiştir. Kopolimer yapının <sup>13</sup>C-NMR ile aydınlatılması amacıyla Şekil 4.17 'de işaretlenerek verilmiştir. Monomer besleme oranları göz önüne alınarak yapılan karakterizasyonu yapılmıştır. Buna göre; NVP monomer birimine ait 5C  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 18 ppm, 1C  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 30 ppm; 4 C  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 32 ppm; 6C  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 42 ppm, 2C  $\delta$  C-N: 55 ppm; 3C  $\delta$  C=O-N: 174 ppm de MA ait pikler; 7-8C  $\delta$  CH:130 ppm; 9-10 C  $\delta$  C=O: 166 ppm'de gözlemlenmiştir.

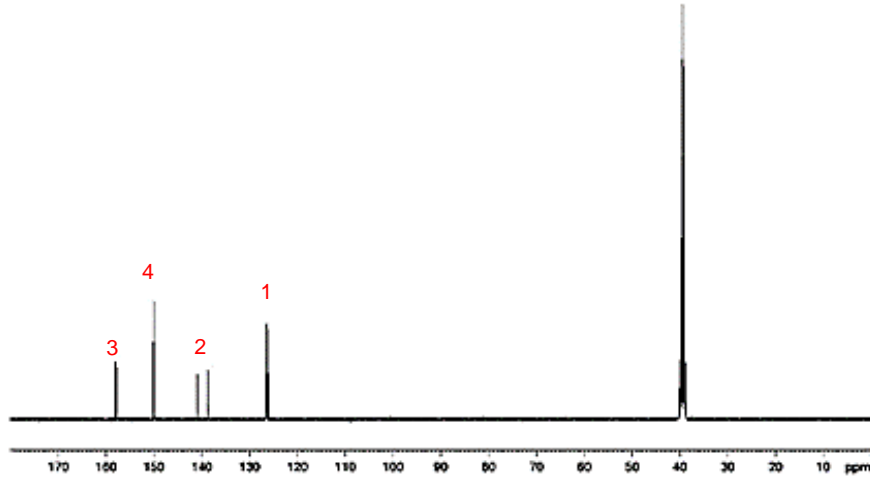


Şekil 4.18. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

Toplu olarak  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumuna (Şekil 4.18) bakıldığı zaman; kompozisyon olarak pik şekli, şiddeti ve kimyasal kayma değerleri göz önüne alındığında 50:50 MA:NVP kompozisyonu konjugasyon işlemleri için uygun olarak seçilmiştir [156].

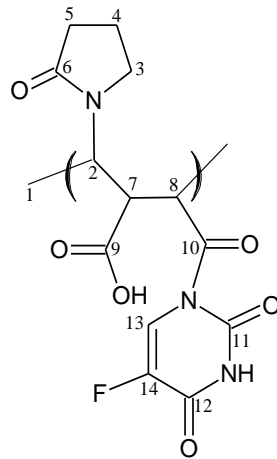


Şekil 4.19. 5-Florourasil (5-FU) ait C(Karbon) atomlarının işaretlenmiş yapısı.

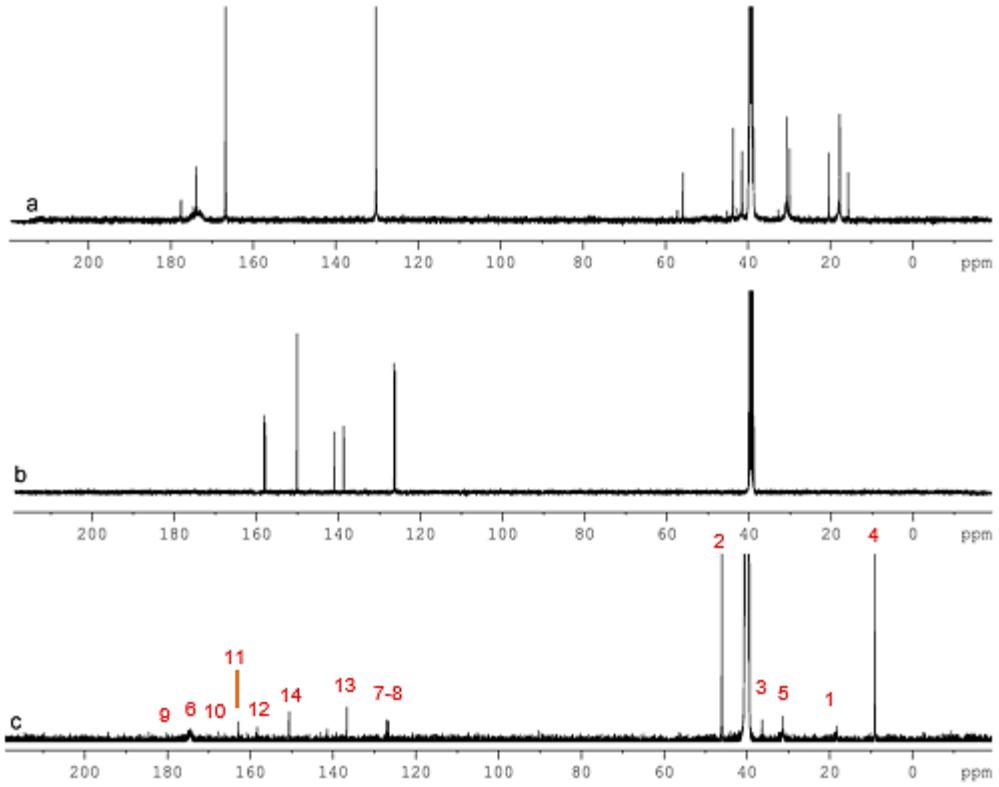


Şekil 4.20. 5-FU'ya ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

5-FU ilacına ait önemli pikler şu şekilde (Şekil 4.20 ve 4.21) verilmiştir: 1C  $\delta$  C-H:126 ppm C1-C2  $\delta$  -C=C-: 138 ppm; 2C  $\delta$  C-C-F: 140 ppm; 4C  $\delta$  C=O-N-H: 150 ppm; 3C  $\delta$  C=O N-H: 157 ppm (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Poli(MA-ard-NVP)-5-FU konjugatına ait karbon atomlarının işaretlenmiş hali.

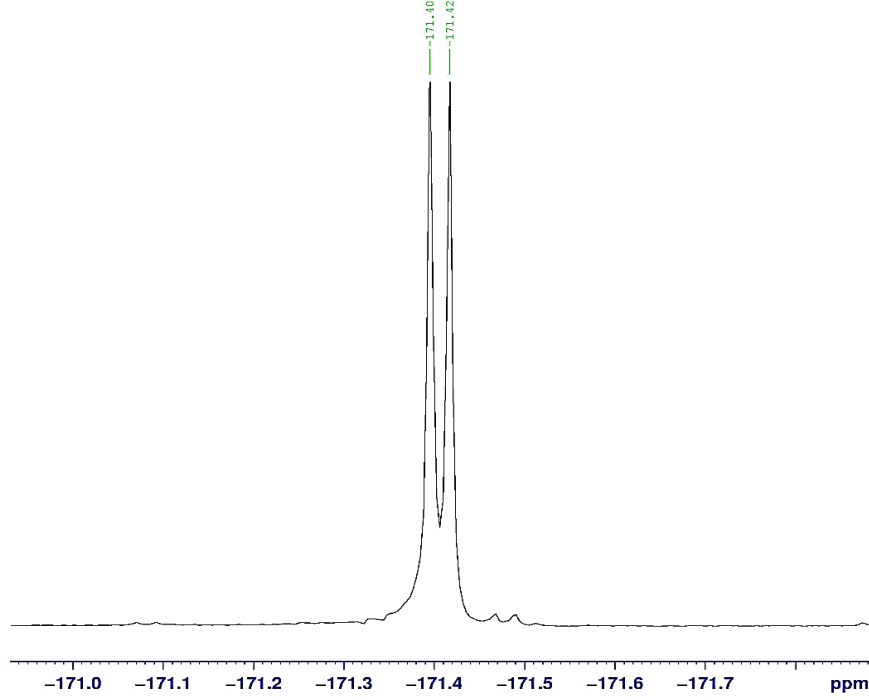


Şekil 4.22. (a) Poli(MA-ard-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup>C-NMR spektrumu.

Konjugata ait toplu olarak verilen şekil üzerinden bağlanma mekanizması ve yapı-özellik analizi yapılmış ve öneli kimyasal kaymalar verilmiştir (Şekil 4.21-4.22). Buna göre; NVP monomerine ait; 4C  $\delta$  CH<sub>2</sub>:9 ppm; 1C  $\delta$  CH<sub>2</sub> 18 ppm,; 5C  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 31 ppm; 3C  $\delta$  CH<sub>2</sub> : 36 ppm; 2C ana zincirde  $\delta$  CH<sub>2</sub> :45 ppm; MA monomerine ait 7-8C  $\delta$  CH:126 ppm; 13C-14C  $\delta$  C=C: 136 ppm, 13C  $\delta$  C=C-H: 138 ppm; 14  $\delta$  C=C-F: 151 ppm; 12C  $\delta$  C=O: 159 ppm 11C  $\delta$  C=O: 165 ppm; 10C  $\delta$  C=O: 168 ppm; 6C  $\delta$  C=O: 175 ppm; 9C  $\delta$  C=O-OH: 182 ppm [176].

#### 4.1.6. Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>19</sup>F-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

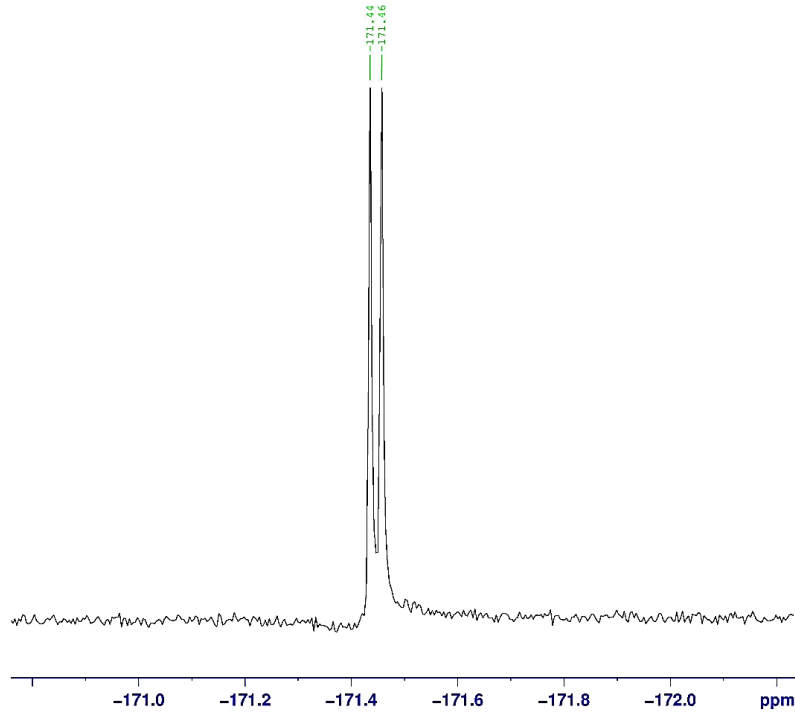
5-FU ve polimer-5-FU konjugatı içerisindeki florü belirleyebilmek ve polimer-5-FU bağlanma mekanizmasını açıklayabilmek amacıyla; <sup>19</sup>F NMR analizleri yapılmıştır. Bu analizler sonucunda alınan spektrumlar Şekil 4.23 ve 4.24'da verilmiştir.



Şekil 4.23. 5-FU'ya ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup>F-NMR spektrumu.

5-FU birimine ait <sup>19</sup>F-NMR piklerinin kimyasal kayma sonuçları aşağıda verilmiştir. 5-FU yapının <sup>19</sup>F-NMR ile aydınlatılması amacıyla Şekil 4.25 ve 4.26'da verilmiştir. 5-FU ve Poli(MA-*ard*-NVP)-5-FU kopolimerinin konjugasyonunu göz önüne alınarak karakterizasyonu yapılmıştır.

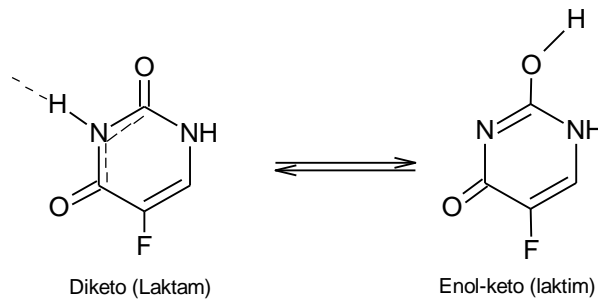




Şekil 4.24. Kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{19}\text{F}$ -NMR spektrumu.

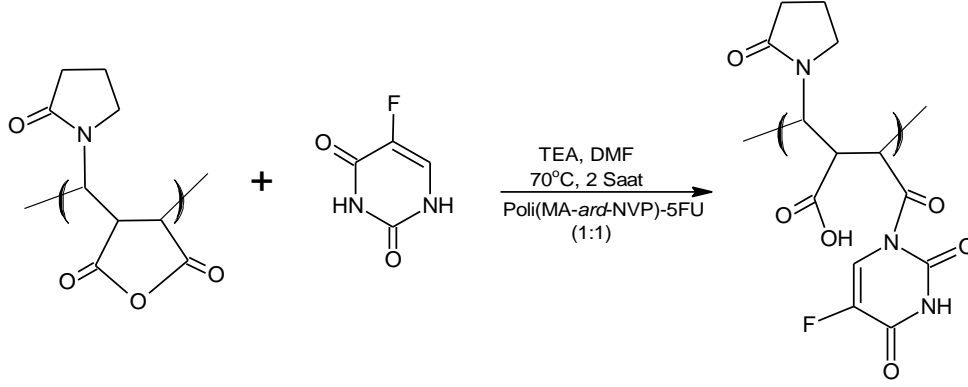
Buna göre; 5-FU birimine ait  $-\text{C}=\text{C}-\text{F}$   $\delta$ : -171.40 ppm'de ve poli(MA-*ard*-NVP)-5-FU kopolimerinin konjugasyonuna ait pikler; -171.46 ppm'de gözlenmiştir [156, 177-179].

$^{19}\text{F}$  sinyallerdeki kayma, deshielding (yerel bir manyetik alan, komşu çekirdeklerin varlığında güçlendirilir) etkisinin artışı gösterir; Dolayısıyla,  $^{19}\text{F}$  atomu etrafındaki elektron yoğunluğu azalmıştır, bu da imino protonun (yani N-H protonu) bir proton alıcısı tarafından deprotonasyonu ile ilişkili olabilir [180].



Şekil 4.25. 5-FU'ya ait  $^{19}\text{F}$ -NMR spektroskopisinde flor atomunun hali.

NMR sonuçlarının kullanılması ile özellikle  $^{19}\text{F}$ -NMR sonuçları kopolimer-ilaç bağlanma mekanizmasının şekil 4.26'de verildiği gibi MA birimine ait C-O-C anhidrit grubunun açılarak 5-FU'nun kimyasal olarak bağlandığını göstermektedir.



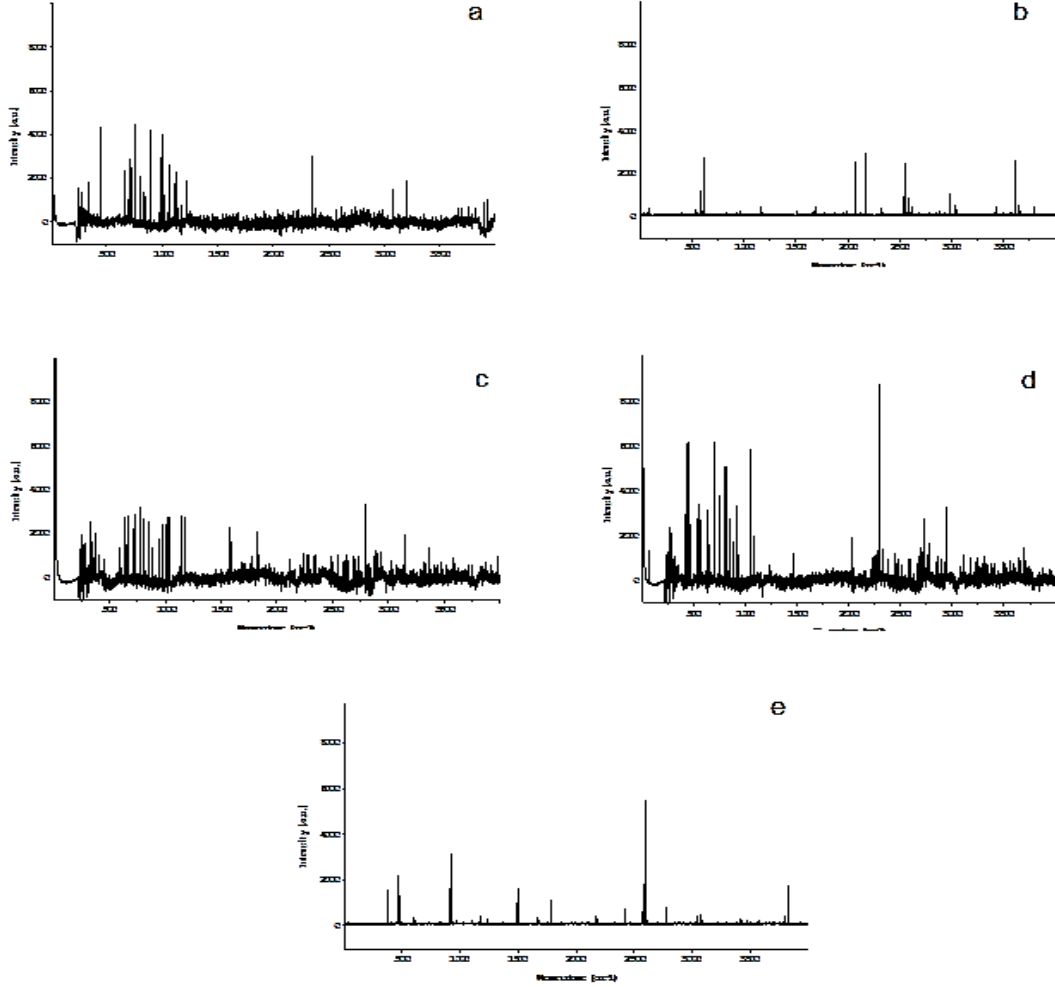
Şekil 4.26. Kopolimer-ilaç konjugatına ait mekanizma.

#### 4.1.7. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları

Titreşim spektroskopisi, maddenin infrared ışınlarını emmesi ya da dağıtması üzerine kurulmuş olan bir spektroskopi dalıdır. Homo nükleer moleküller ( $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$  ve  $\text{Cl}_2$  gibi) dışında bütün moleküller infrared ışınlarını emer ve infrared spektrumu verirken homo nükleer moleküller de Raman'da sinyal verirler.

Moleküller üzerlerine düşen elektromanyetik enerjiyi emerler. Bu arada bağın gerilmesi neticesinde atomlar birbirine yaklaşır veya uzaklaşır. Eğer atom sayısı ikiden daha fazla olursa bağlar arasındaki açı değişecektir. Moleküldeki bağlar, açılar ve kütleler (atomlar) farklı olduğundan her birinin titreşim enerjisi de farklılaşır. Bir moleküldeki gerilme ve bükülme titreşim enerjileri molekül üzerine düşen elektromanyetik ışınların uygun frekansta olanları molekül tarafından emilirler. Raman IR'nin tamamlayıcısı olup IR'de gözlenmeyen zayıf titreşimler burada gözlenebilir. Ayrıca kullanılan malzeme açısından sınırlama olmayışı, UV, görünür ve yakın IR ışınlarının kullanılabilmesi, optik olarak ölçüm kolaylığının olması, suda rahatlıkla çalışılabilmesi, dipol moment değişimine ihtiyaç duyulmaksızın yani simetrik gerilmelerin raman aktif olması gibi IR'ye göre bir takım olumlu yönleri

mevcuttur. Bu amaçlarla; kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatına ait Raman spektrumları şekil 4.27 ve 4.28'de verilmiştir.



Şekil 4.27. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de HR-Raman spektrumu.

Fonksiyonel gruplara sahip suda çözünür özellikleri anhidrit içeren kopolimerin oluşturdukları yapıların içerisinde spektroskopik en iyi sonuçlar yapının 50:50 besleme oranında sentezlenen kopolimerine aittir. Bu sonuçlar alt tabloda (Tablo 4.4) verildiği gibi ATR-FTIR'da gösterilmiştir.

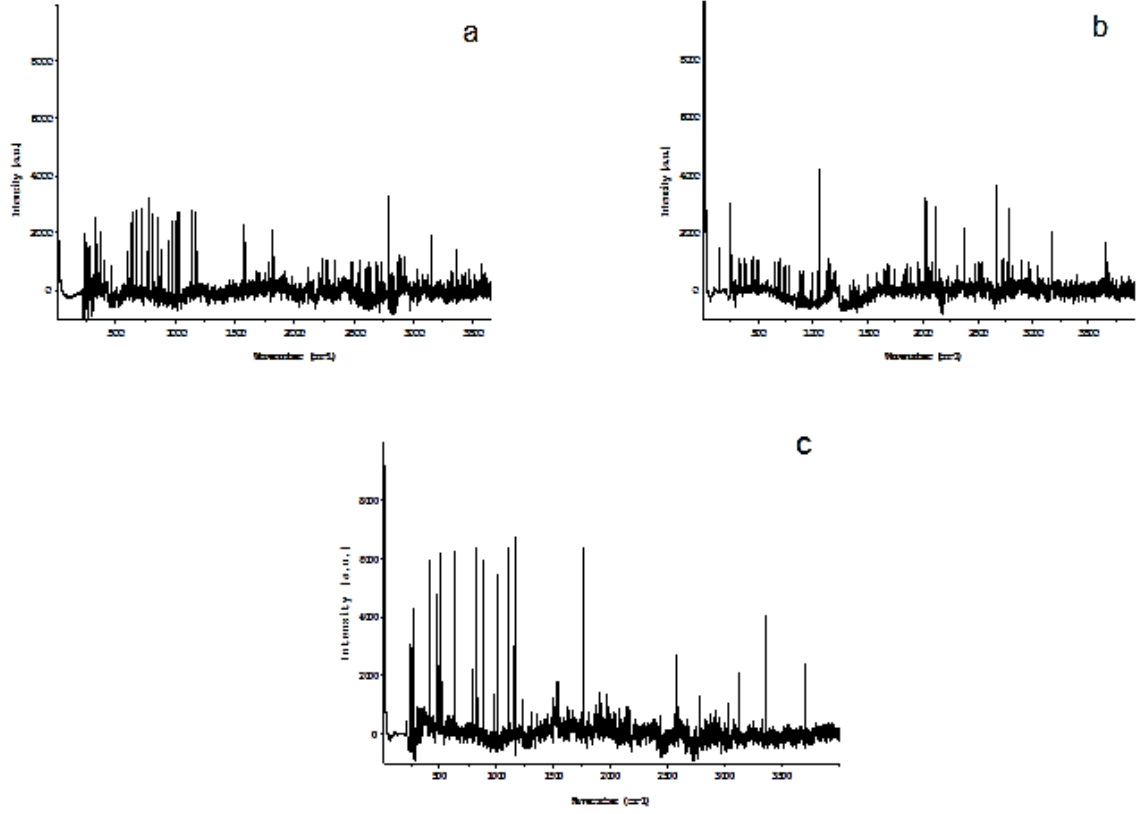
Tablo 4.4. Poli(MA-ard-NVP) kopolimerine ait HR-Raman ve ATR-FTIR spektrumlarının karşılaştırması

Fonksiyonel grubun adı	IR bantları (cm <sup>-1</sup> )	Raman bantları (cm <sup>-1</sup> )
-C-H gerilme	2916	2900
N-H ait gerilme bandı	3100	3120
MA ait -C=O gerilme bandı	1839	1810
NVP ait -C=O bandı	1734	1780
Eterik C-O-C gerilme bandı	1100	1095
C-C gerilme bandı	950	930-940
-CH <sub>2</sub> gerilme bandı	1350	1380

Şekil 4.28'de konjugasyondan sonra yapılan Raman analizleri verilmiştir. Yapısal karakterizasyonu Raman ile yapılan kopolimer yapısı trietilamin (TEA) katalizörü varlığında kimyasal olarak modifiye edilerek polimer ilaç konjugatları hazırlanmıştır. Bu mekanizmaya göre 5-FU'ya ait bağ 1054 cm<sup>-1</sup>'de, C-O eğilme bandına ait pikler ATR-FTIR'da 1234 cm<sup>-1</sup>'de gözlenirken, Raman spektroskopisinde 1230 cm<sup>-1</sup>'de izlenmiştir. C-N bandı 1647 cm<sup>-1</sup>'de ve C=O bandı ATR-FTIR'de 1721cm<sup>-1</sup>'de, ama Raman spektroskopisinde 1759 cm<sup>-1</sup>'de ve N-H bantları 3118 cm<sup>-1</sup>'de görünmüştür.

Konjugasyondan sonra kopolimer ve 5-FU'ya ait olmayan ve amitleşme C-CONHR reaksiyonu sonucu oluşan yeni pikler bulunmuştur. 1456 cm<sup>-1</sup>'de C-N kuvvetli bükülme ve C-N ait 2361 cm<sup>-1</sup>'de ise orta şiddetli pikler ATR-FTIR'da bulunmuştur. ATR-FTIR'den elde edilen sonuçları Raman spektroskopisi ile karşılaştırdığımız zaman 1450 cm<sup>-1</sup>'de zayıf şiddette ki pik C-N bükülme piklerine ve C-N ait pik ise 2450 cm<sup>-1</sup>'de orta şiddette bulunmuştur.

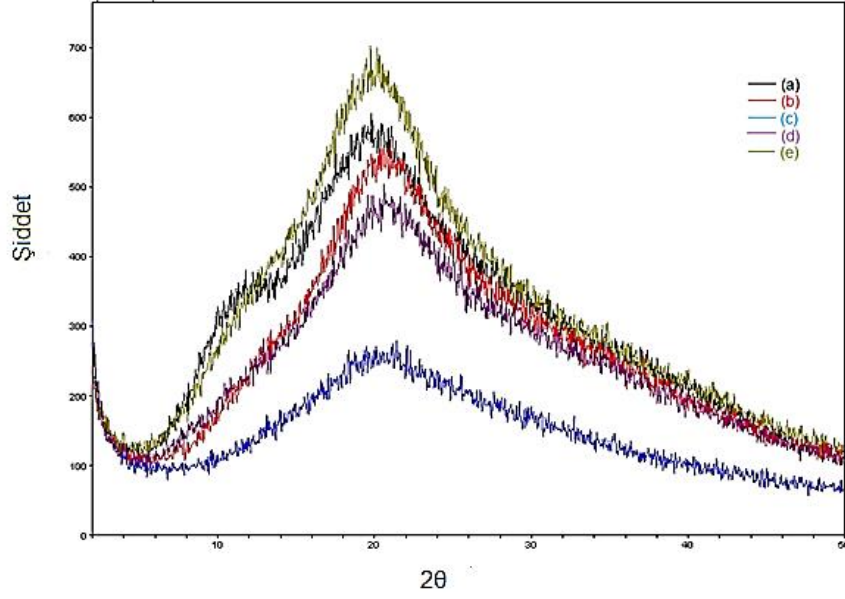
Polimer-ilaç yapısında 990 cm<sup>-1</sup>'de ATR-FTIR'dan bulunan 5-FU'ya ait pik aynı zamanda Raman spektroskopisinde 1001 cm<sup>-1</sup> izlenmiştir. 3380 cm<sup>-1</sup> deki pik, O-H gerilmesi moleküller arası polihidroksi yapısına ait OH gerilmesidir. C-F bandı ise 1390 cm<sup>-1</sup>'de bulunmuştur.



Şekil 4.28. (a) Poli(MA-ard-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de HR-Raman spektrumu.

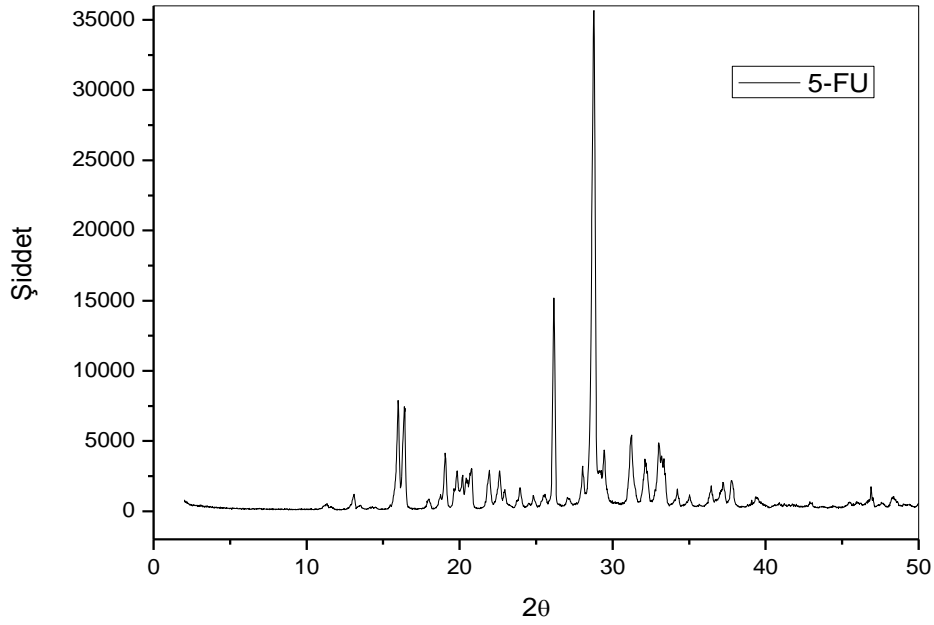
#### 4.1.8. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının X-Işını Kırınımı (XRD) Çalışmaları

X-ışını kırınımı bir kristalin atomik ve moleküler durumunu incelemek için kullanılan ve kristalleşmiş atomların bir X-ışını demetindeki ışınların kristale özel farklı yönlerde kırınımı olayına dayanan, bir tekniktir. X-ışınıyla kristal yapıları, bir malzemenin farklı olan, yeni elektronik ve esneklik özelliklerini açıklayabilir. *p*-dioksan ortamında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerinin XRD difraktogramları Şekil 4.29-4.31'de verilmiştir.



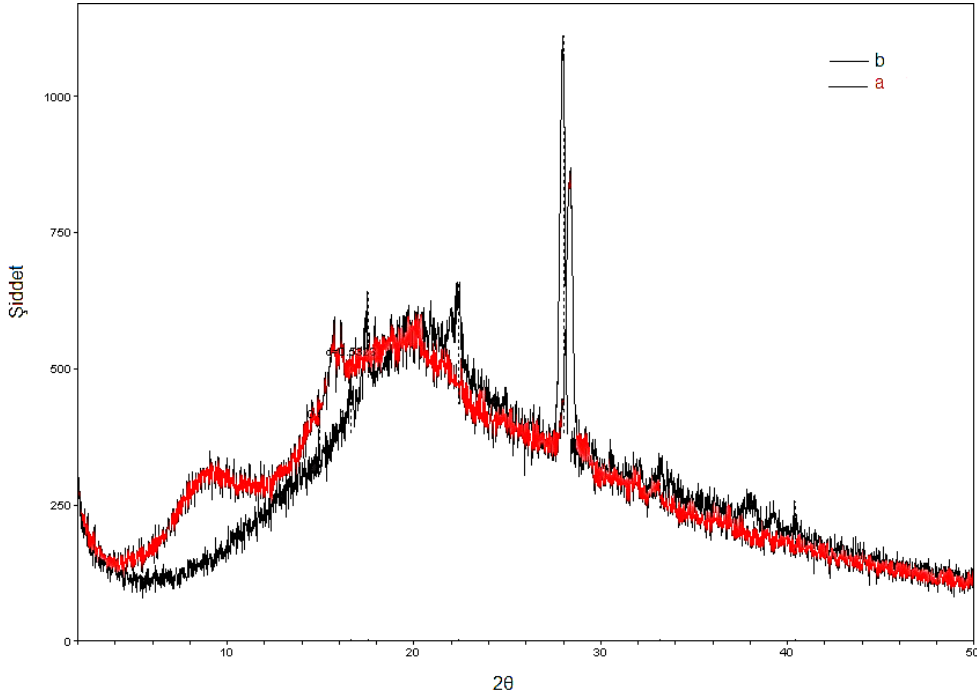
Şekil 4.29. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin XRD spektrumu.

Farklı kompozisyonda (monomer oranında) sentezlenen polimerlerin genel yapısı amorfa yakın olarak gözlenmiştir. Bu yapılarıdaki kristalinite değerleri genellikle düşük ve yapının amorf karakterde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.30. 5-FU'ya ait XRD spektrumu.

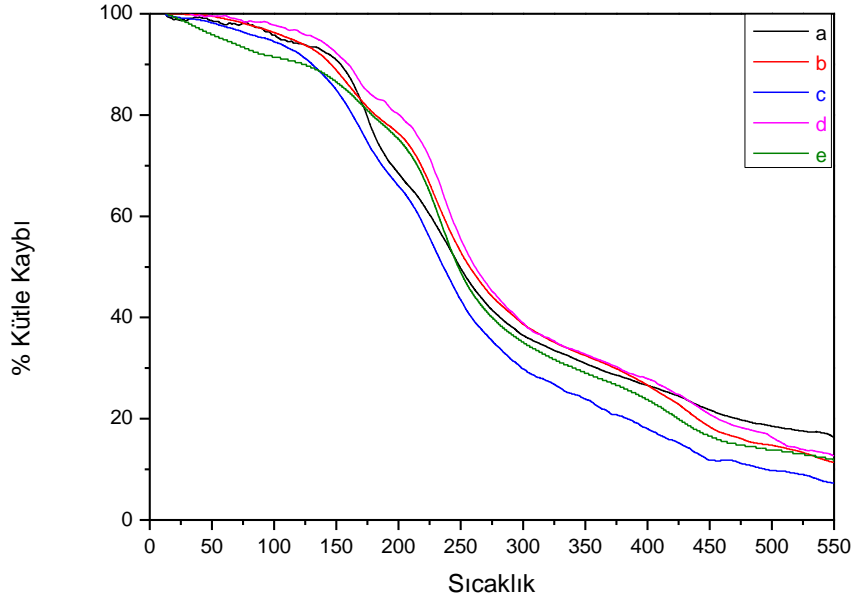
5-FU' ya ait XRD spektrumunda şekil 4.31'de görüldüğü gibi karakteristik şiddetli pikler  $2\theta$  kırınım açısından  $17^\circ$ ,  $21^\circ$ ,  $26^\circ$  ve  $28^\circ$ 'de izlenmiştir. Şekil 4.31'de polimer-ilaç konjugasyonundan sonra X-ışınları deseni görülmektedir. 50:50 monomer oranında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) XRD deseninde  $2\theta$  değeri  $3.04^\circ$ 'de kristal pik gözlenmezken konjugasyon sonrasında  $28.05^\circ$ 'de 5-FU den gelen pik şiddetli olarak görülmüştür. İzlenen bu pik kopolimer-ilaç konjugasyonu yapılmasının önemli göstergelerinden biridir.



Şekil 4.31. (a) kopolimer-ilaç konjugatı, (b) 5-FU ait XRD spektrumu.

#### 4.1.9. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ve Termogravimetrik Analiz (TGA) Çalışmaları

Kurutulmuş ve öğütülmüş poli(MA-ard-NVP) kopolimerinin TGA ve DSC analizlerinde Shimadzu DTG 60H ve DSC 60H cihazıyla 10 mL/dak akış hızında azot ortamında 2-5 mg örnek ağırlıklarında örnekler kullanılarak analiz edilmiştir. Bu çalışmada  $40^\circ\text{C}$ 'de 24 saat kurutulmuşve öğütülmüş numuneler ile çalışılmıştır.



Şekil 4.32. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de TGA termogramı.

Termal kararlılık açısından incelendiği zaman; poli(MA-*ard*-NVP) için birinci bozunma basamağı, yan grupların, su, çözücü gibi uçucu grupların, doymuş ve doymamış bantların eliminasyonu ile sonuçlanır (Şekil 4.32-4.35). Poli(MA-*ard*-NVP) için önemli ağırlık kaybı 200-400°C arasında olmuştur. 400 °C ile 500 °C arasında daha düşük bir oranda ağırlık kaybı devam etmiştir.

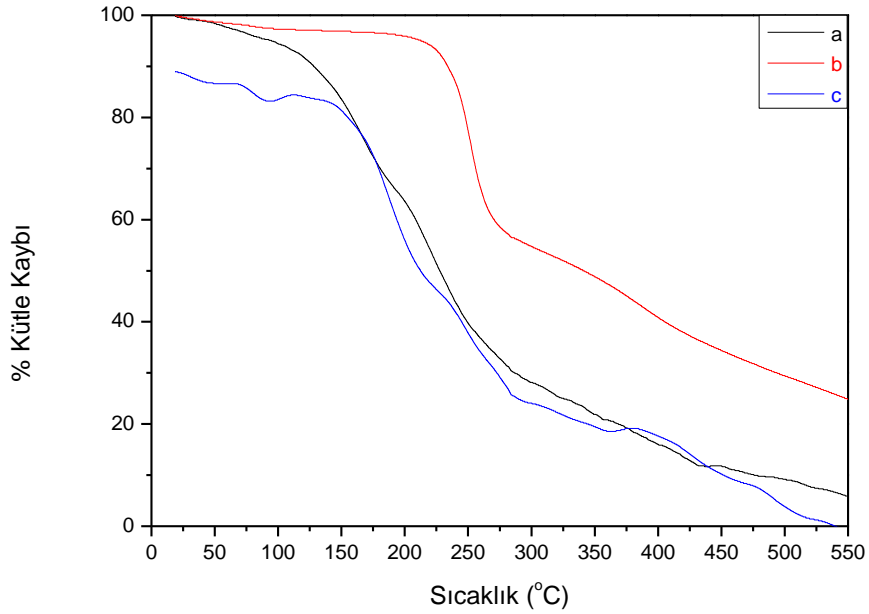
Tablo 4.5. MA:NVP: (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin termoanalitik değerleri.

Örnekler	Sıcaklık (°C) – Kütle kaybı (%)			
	100	300	400	500
SH <sub>1</sub>	6.3	60.5	70.5	80.2
SH <sub>2</sub>	6.5	57.8	71.5	80.5
SH <sub>3</sub>	3.5	62.9	76.6	88.4
SH <sub>4</sub>	2.8	61.5	71.4	82.9
SH <sub>5</sub>	6.7	64.2	72.5	86.7



Yan grupların düşük sıcaklıktaki bozunmasını yüksek sıcaklıklarda polimerin ana zincirinin bozunması takip etmektedir. Tüm örneklerde yaklaşık 225-310 °C sıcaklıklarında gözlenen örneklerdeki polimer zincirinin üzerinde bulunan grupların yanarak yapısından uzaklaştığını göstermektedir.

Genel olarak, TGA termogramları değerlendirildiğinde; tüm kompozisyonlardaki polimer örneklerinde 115 °C ve 225-310 °C sıcaklık aralıklarındaki kütle kayıpları keskin bir durum gösterirken diğer sıcaklıklarda kütle kaybı değişimleri keskin olmayıp yumuşak bir geçiş göstermektedir. Diğer bir deyişle, düşük sıcaklıklardaki pikler örneklerdeki nem kaybını veya serbest suyun çıkışını temsil etmesine karşın, keskin piklerin görüldüğü yerler dışındaki sıcaklık değişimlerine karşı gelen bölgelerde önemli değişim gözlenmemiştir.



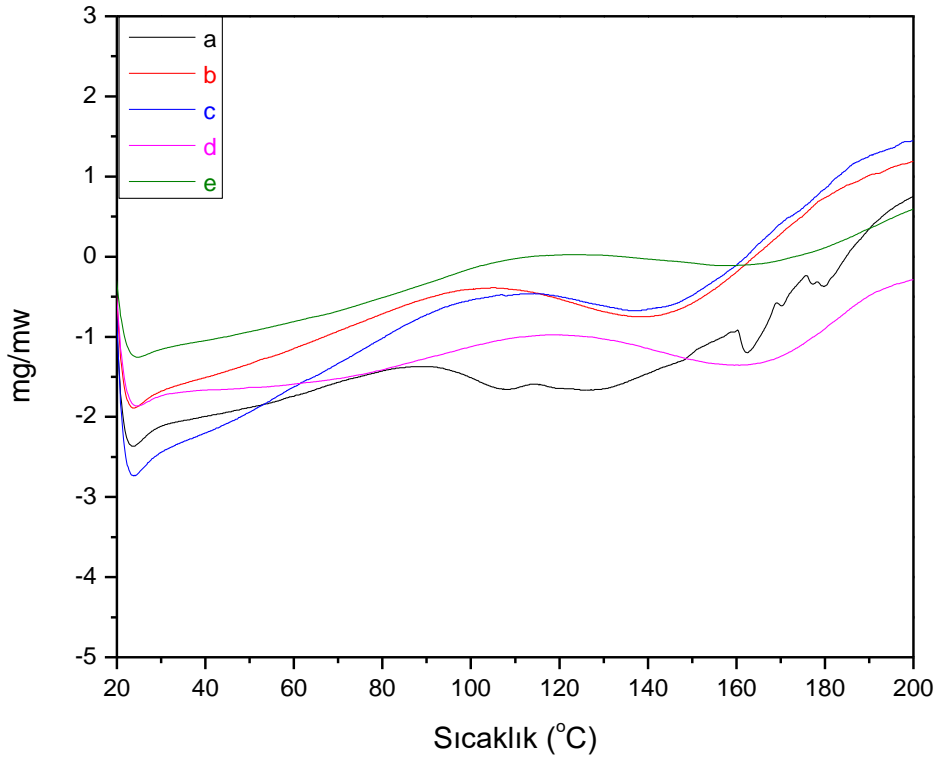
Şekil 4.33. MA:NVP: (a) 50:50, (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait TGA termogramı.

Şekil 4.33 ve 4.34'de görülen termogramlara (TGA) göre ardışık kopolimerlerin ve 5-FU içerikli kopolimer konjugatı ısıl bozunurluk parametreleri karşılaştırıldığında 5-FU içerikli kopolimerlerin zincirinde oluşan ısıl kararlı kompleksleşmiş karboksil, amit gruplarının oluşumu nedeniyle daha üstün performanslı ısıl özelliklere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

DSC termogramları tüm kopolimerler için incelendiğinde camsı geçiş sıcaklığı gibi önemli bilgiler alınmıştır (Şekil 4.34 ve 4.35). DSC analizlerinden camsı geçiş sıcaklığının ( $T_g$ ) yaklaşık olarak  $118^{\circ}\text{C}$ 'de gözlenmiştir. Camsı geçiş sıcaklığı polimerde oluşan makromoleküler segmentleri hareketlerinin sıcaklığa bağlı geçişi olarak değerlendirilir.

Farklı beslenme oranlarında sentezlenen kopolimerlerin DSC termogram sonuçlarına göre 50:50 oranındaki sentezlenen kopolimerin teorik olarak beklenildiği gibi, diğer beslenme oranlarında sentezlenen kopolimerlerin termogramlarının arasında çıkmaktadır.

Bu sonuç 50:50 oranındaki sentezlenen kopolimerin en uyumlu özelliği göstermektedir.

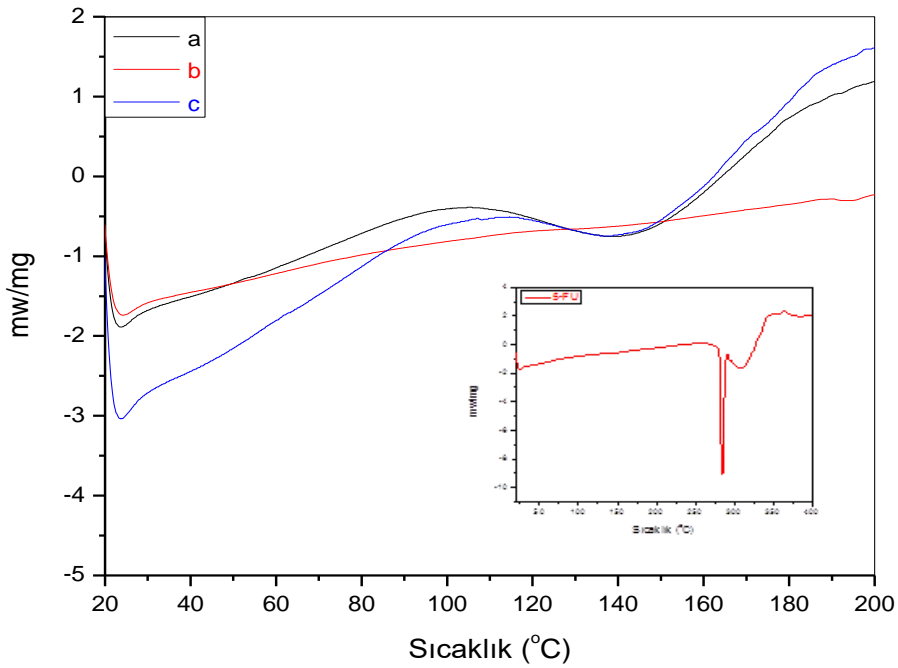


Şekil 4.34. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği DSC termogramı.

Şekil 4.35 ve 4.36'de ilaç ve polimer-ilaç konugatına ait DSC termogramları göstermektedir. Sentezlenen kopolimerlerin arasında  $T_g$  için gözlenen ilişki MA'deki karbonil ve NVP'deki amit grupların moleküller arası ve içi ve H-bağları ile

açıklanabilir. Yukarıdaki şekillerde görüldüğü gibi NVP miktarı arttığı zaman  $T_g$  de bir artış gözlenmiştir. Bu izlenen yüksek termal kararlılık NVP ve MA birimi arasındaki amitleşme reaksiyonunu ile açıklanabilir. Bu gerçekleşen amitleşme reaksiyonu NVP biriminde bulunan amin grubu ve MA birimindeki karboksilik grubu ile açıklanabilmektedir.

Bu sonuçlara göre endotermik piklerin şiddeti ve yoğunluğu camsı geçiş sıcaklığı;  $T_g$  ile doğrusal ilişkilidir. Burada gözlenen camsı geçiş sıcaklığının piki ilacın kristal yapısından ve monomerlerin kopolimer yapısındaki oranlarına ve özellikle polimerin ardışık yapıya sahip olmasına bağlıdır.



Şekil 4.35. MA:NVP (a) 50:50 ve (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait DSC termogramı.

$T_g$  molekül içi ve moleküller arası yapısal düzenlilik ve sertliğine bağlıdır. Şekillerde gösterdiği gibi NVP miktarı monomer beslenme oranında arttığı zaman  $T_g$  de bir artış gözlenmiştir. Ardışık kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının DSC eğrileri Şekil 4.35'de verilmiştir. Bu eğriler kıyaslandığında kopolimer-ilacın camsı geçiş sıcaklığı, ardışık kopolimere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

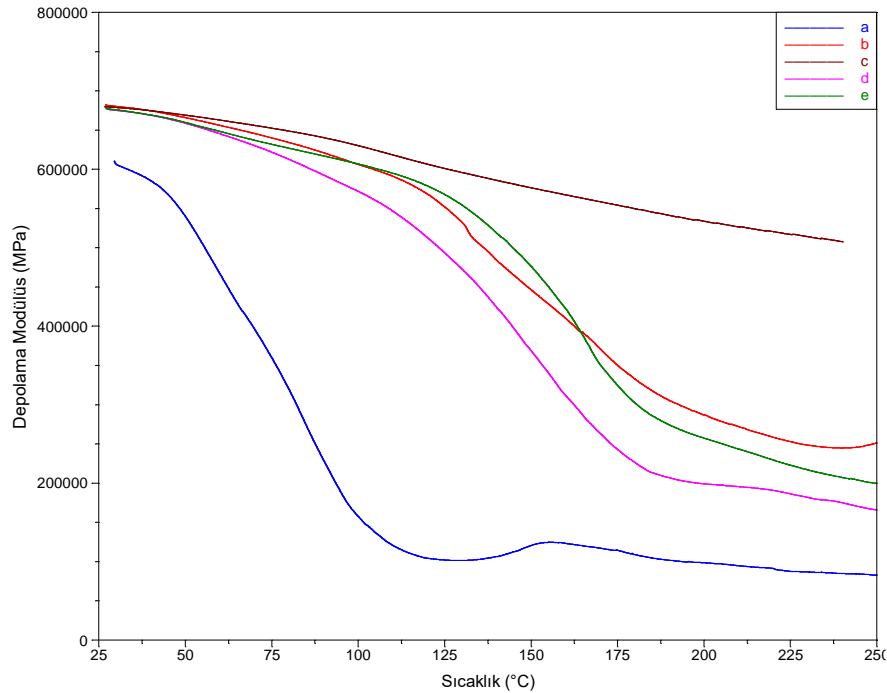
Şekil 4.34 ve 4.35'de verilen DSC eğrilerine göre kristalleşme piklerinin oluşmayıp erimeendopiklerinin oluşması, 5-FU içeren kopolimerlerin moleküler arası veya moleküller içigüçlü hidrojen-bağları oluşturabilen anhidrit, amit, karboksil ve

gruplarına ve makromoleküler segmentlerin hidrofilik/hidrofobik dengeye sahip olmalarından dolayıdır.

#### 4.1.10. Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Çalışmaları

Yük transfer kompleks yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)'nin dinamik mekanik özellikleri (depolama modülü SM), Kayıp modülü (LM) ve Tan  $\delta$ ) şekil 4.36-4.41'de verilmiştir.

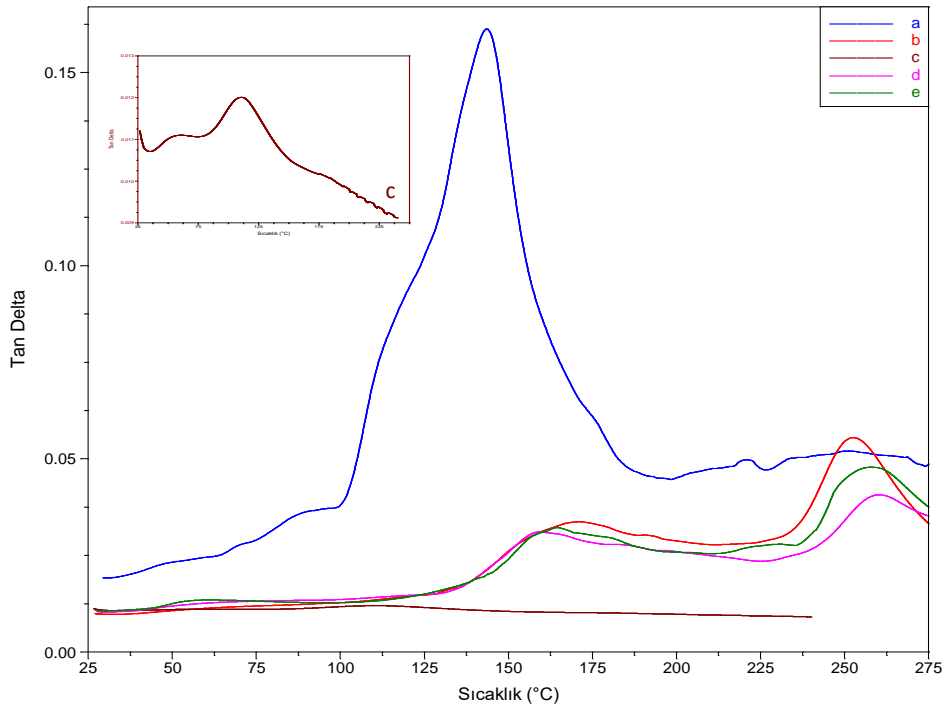
Depolama modülü(SM)(G') , malzemenin elastik olarak saklanan, kayıp modülü (LM)(G'') ise, malzemenin sürünme sonucu dağılan enerjisini temsil eder. Tan  $\delta$ , G''/G' oranı ile elde edilir, yapısal değişimlerden fazlaca etkilenmesinden kaynaklı genellikle camsı geçiş sıcaklığının bulunmasında kullanılır.



Şekil 4.36. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği SM-T eğrileri.

Şekil 4.36 'de farklı beslenme oranlarında yük transfer polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin SM-T eğrileri verilmiştir. Farklı beslenme oranlarında sentezlenen ardışık kopolimeri değerlendirdiğinde, SH3(MA-NVP)(80:20) en yüksek depolama modülüne sahip olduğunu görülmüştür. 125-145 °C aralığında kopolimer yapısında yaklaşık 300000 Mpa kadar hızlı bir düşme vardır. Genel olarak kopolimer yapılarının SM eğrisi birbirine benzer davranış göstermektedir.

SH1, SH2, SH3, SH4, SH5 örneklerinin  $Tan\delta$ -sıcaklık eğrileri şekil 4.37 'de verilmektedir.  $Tan\delta$ -sıcaklık eğrilerine göre sıcaklık artışı ile  $T_g$ 'nin bulunabileceği pik maksimumları ile gözlenebilmektedir. Bu maksimumlardan önce gözlenen  $T_g$  altı geçişler, polimerin ana zincire ait olan yan grupların veya alifatik zincirlerin hareketliliği ile ilişkilidir.



Şekil 4.37. MA:NVP:(a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği  $Tan\delta$ -t eğrileri.

Termal enerji ile birlikte polimer zincirleri konum ve yönlenme açısından dalgalanma göstermesi ve camsı geçiş bölgesinde gözlenen Brownian hareketleri olarak

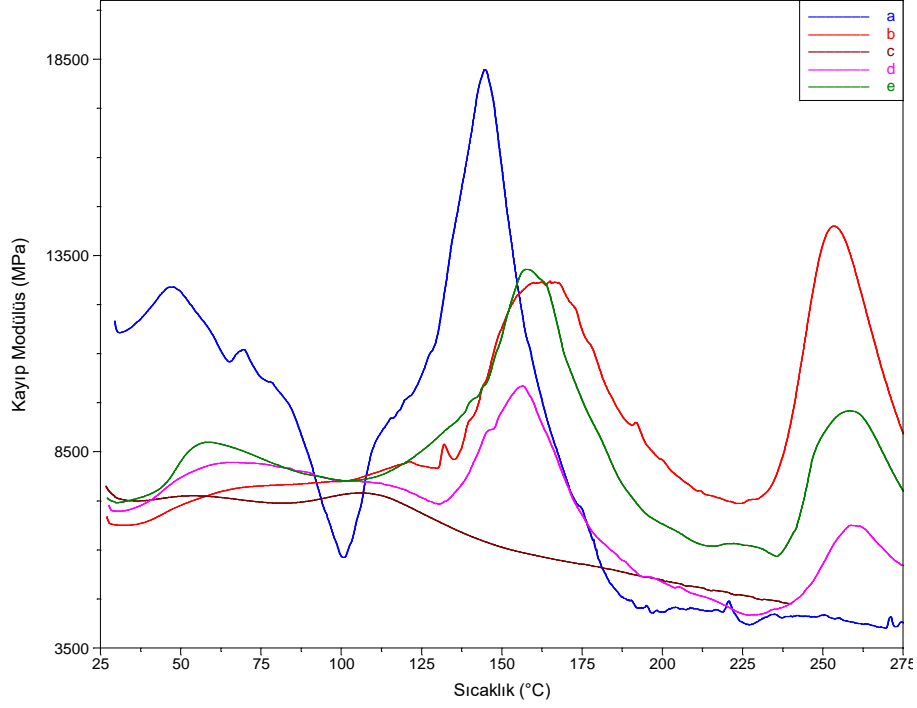
açıklanmıştır. Camsı geçiş özelliği gösteren moleküllerin diğer moleküllere göre daha fazla depolandıklarından dolayı daha yüksek sıcaklıklarda serbest hale geçip ve enerjilerini dışarıya verdikleri beklenmektedir [181].

Yük transfer kompleks reaksiyon ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)'in DMA ile elde edilen  $T_g$  değerleri DSC ile elde edilenlerle karşılaştırıldığında, DMA ile elde edilen  $T_g$  değerlerinin, DSC ile elde edilen  $T_g$  değerlerinden birkaç derece daha farklı olduğu görülmüştür.

Tablo 4.6. CTC yöntemi ile farklı oranlarda sentezlenen ardışık kopolimerlerin ısısal davranışları.

<b>Kopolimerler</b>	<b>DSC analizi <math>T_g</math> (°C)</b>	<b>DMA analizi <math>T_g</math> (°C)</b>
SH1	118	111
SH2	119	120
SH3	122	112
SH4	125	119
SH5	125	120

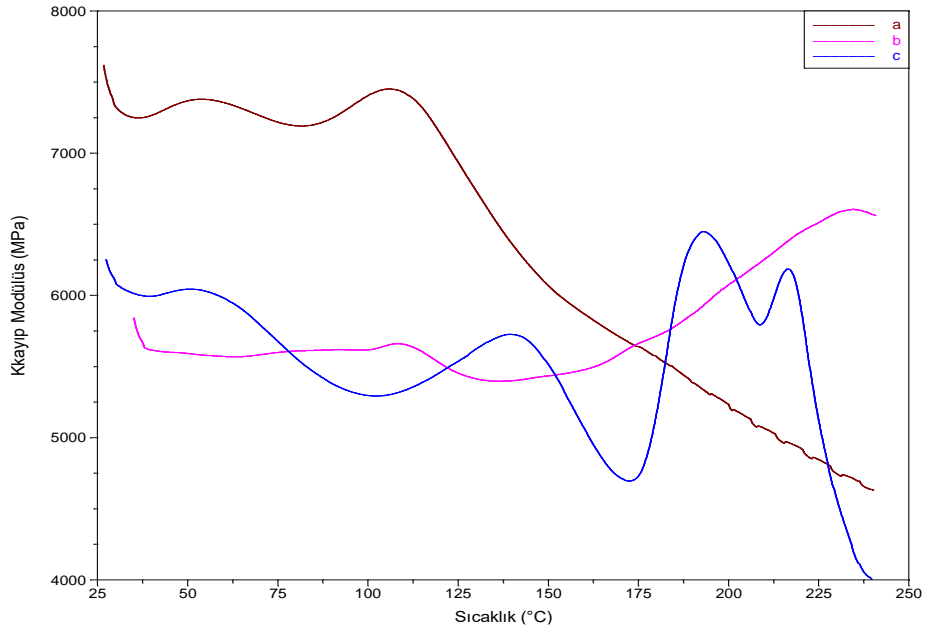
Yük transfer kompleks reaksiyonu ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) 50:50 oranındaki kopolimerin camsı geçiş sıcaklığı yaklaşık 112°C olarak bulunmuştur (Şekil 4.38).



Şekil 4.38. MA:NVP:(a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği LM-T eğrileri.

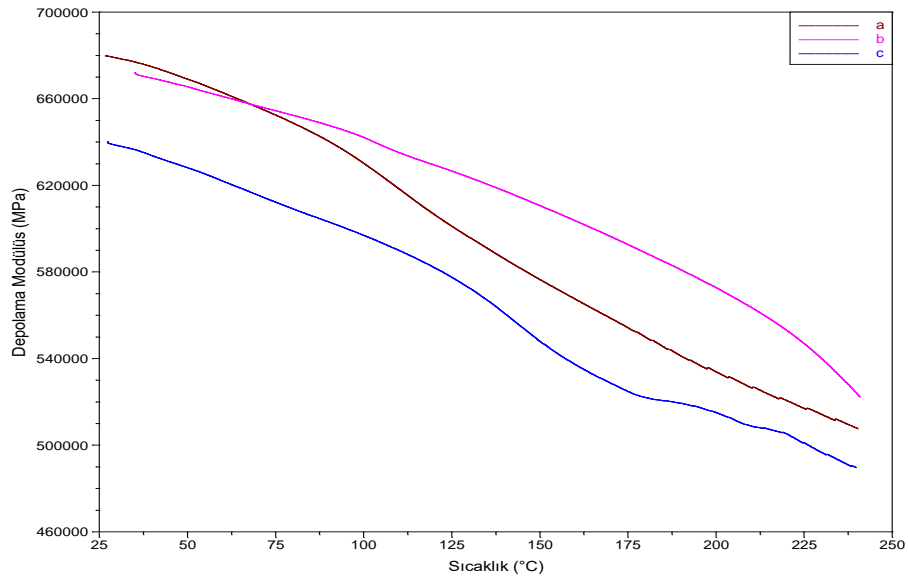
Şekil 4.39-4.41'de kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatına ait depolama modülüsü, kayıp modülüsü ve Tan  $\delta$ -T eğrileri görülmektedir. Konjugasyon ile kopolimer örneklerin sertliğinin arttığını, elastikiyetlerinin azaldığını göstermektedir.

Ayrıca şekil 4.39-4.41 incelendiğinde; camsı halden elastik hale geçiş sıcaklık aralığının konjugasyonu sonucunda daha yüksek sıcaklıklara kaydığı görülmektedir. Konjugasyon sonucu kopolimer-ilaç konjugatının camsı geçiş sıcaklığı 141°C olarak bulunmuştur.



Şekil 4.39. (a) Poli(MA-ard-NVP) (50:50), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait SM-T eğrileri.

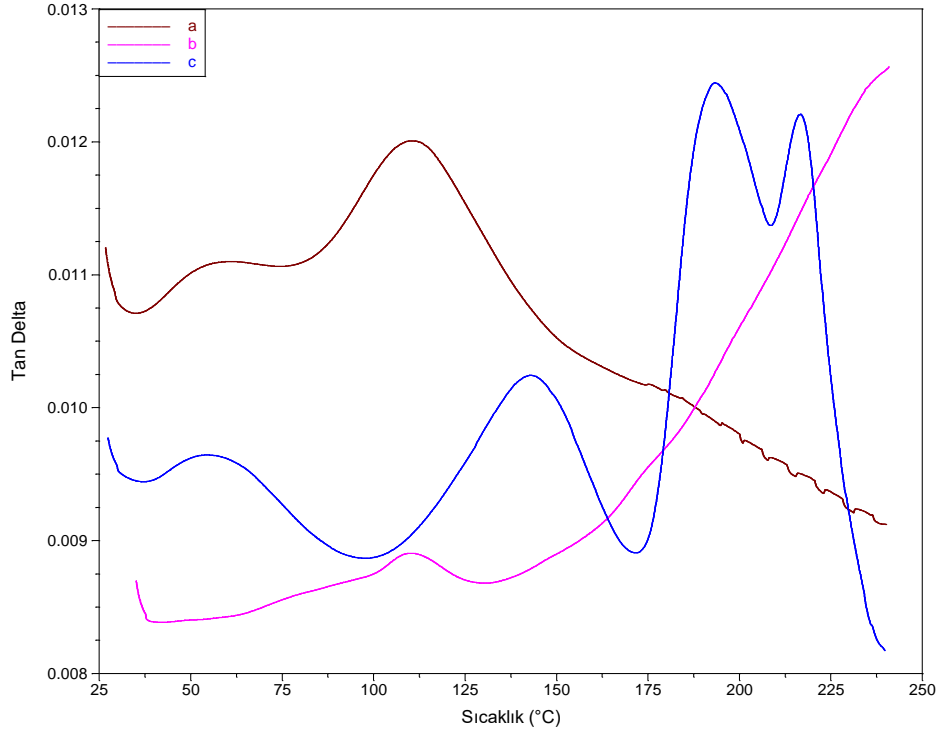
DMA'dan alınan sonuçlara genel olarak değerlendirdiğinde sentezlenen kopolimerlerin ve kopolimer-ilaç konjugatının davranışları benzemektedir. Fonksiyonel kopolimerin molekül içi ve moleküller arası H-bağının olması ve bu uyumlaştırıcı özellik yapıya mekanik dayanım vermesi gözlenmektedir.



Şekil 4.40. (a) Poli(MA-ard-NVP), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait LM-T eğrileri.



Yük transfer yöntemi ile sentezlenen kopolimerin Tan- $\delta$  eğrisine dikkat edildiği zaman  $T_g$  geçişinde polimer üzerinde bulunan H-bağı ve fonksiyonel grupları nedeniyle geniş bir bant gözlenmiştir. Ama kopolimer konjugatında aromatik 5-FU molekül dönmelerini engellemesi olarak bu pik gözlenmemiştir.



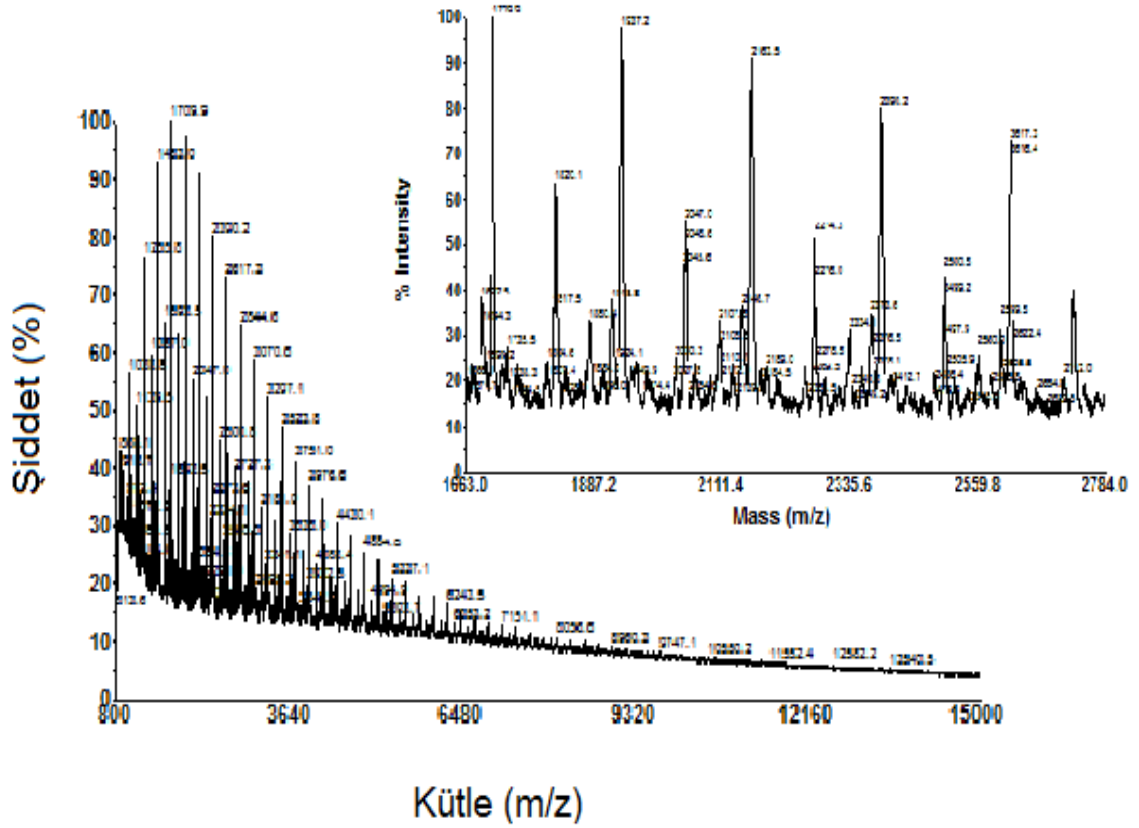
Şekil 4.41. (a) Poli(MA-ard-NVP), (b) 5 FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait Tan  $\delta$  –T Eğrileri.

#### 4.1.11. Matriks-Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaştırmalı-Uçuş zamanlı-Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ile Mol kütlesi Tayini

Sentezlenen kopolimerin MALDI-TOF-MS kütle spektrometresi analizlerinin sonucu şekil 4-42’de verilmiştir. Polimerlerin MALDI-kütle spektrumlarında gözlenen piklerin m/z değerlerinden polimerlerin tekrarlanan grupları izlenmiş ve sayıca-ortalama mol kütlesi ( $M_n$ ), ağırlıkça-ortalama mol kütlesi ( $M_w$ ), z-ortalama mol kütlesi ( $M_z$ ) ve heterojenlik indeksi (PDI) değeri belirlenmiştir.

Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerin bileşenlerinden biri olan NVP tekrarlanan gruplarına referans olması için MA polimerinin MALDI-kütle spektrumu kaydedilmiş ve Şekil 4.42'te verilmiştir.

Kütle spektrumunda izlenen pozitif iyon pikleri arasındaki fark, tekrarlanan monomerik NVP grubunun molekül kütlesi (111.14 g/mol) ile MA grubunun molekül kütlesi (98.06 g/mol) gözlenmiştir. İki farklı tekrarlanan monomerik grup içeren poli(MA-*ard*-NVP) zincir yapılarında eşit sayıda MA veya NVP tekrarlanan grupları içermesi, halkalaşma ve polimer zincirlerine H<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> gibi iyonların takılmış olması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir.



Şekil 4.42. Poli(MA-*ard*-NVP)(50:50) kopolimerine ait MALDI-TOF-MS spektroskopisi.

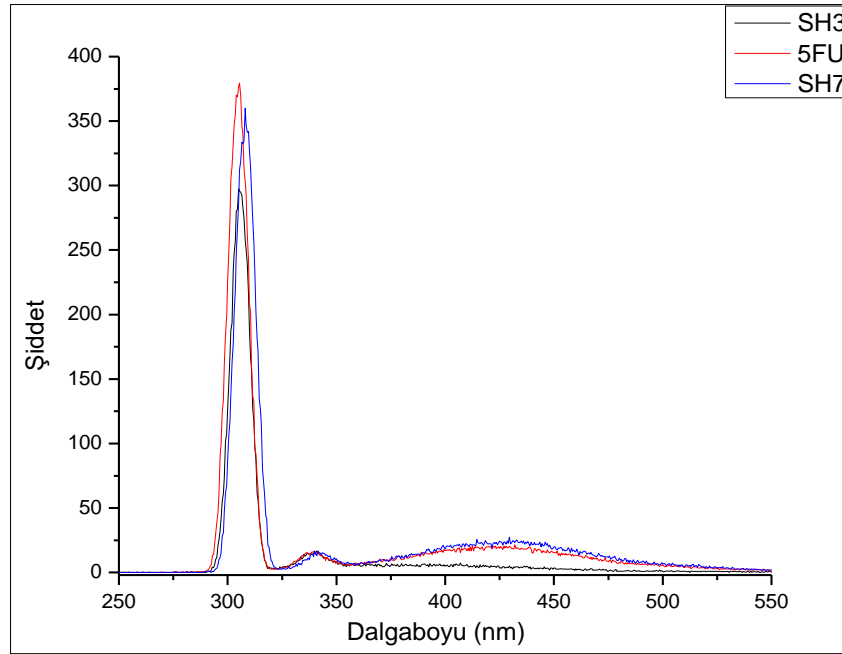
Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerin MALDI-kütle spektrumlarından elde edilen önemli sonuçlardan biri de sentezlenen kopolimerlerin  $M_n$ ,  $M_w$ ,  $M_z$  ve PDI değerlerinin

belirlenmesidir. Bu sonuçlara göre  $M_n=4419.38$ ,  $M_w=7127.41$ ,  $M_z=9301.92$  ve  $PDI=1.61$  değerleri bulunmuştur.

Buanalizlere göre, şekilde görülen 1709 m/z'deki pike NVP'nin kütlesini eklendiği zaman 1823 m/z karşılık gelmektedir ve bu düzen grafik boyunca devam etmektedir. Grafikten elde edilen sonuca göre, sentezlenen kopolimerde, monomer birimleri ardışık şekilde birbirlerine eklenerek zincir boyunca sıralarını korumak vaziyette görünmektedirler ve bu sonuç kopolimerin ardışık yapıya sahip olduğunu açıkça göstermektedir [182, 183].

#### 4.1.12. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları

Kopolimer-ilaç yapısında tutulan ilacın analizi için standart ilaç etken maddesinden (5-FU) belirli derişimlerde çözeltide hazırlanmıştır ve bu çözelti Şekil 4.43'de verilen Floresans emisyon spektrumları kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Ölçümler, uyarılma (excitation) dalgaboyu 302 nm ve yayınma (emission) dalgaboyu 374 nm'de yapılmıştır. İlaç konjugatını araştırmak için 2 mL fosfat tampon kullanılmıştır [156].



Şekil 4.43. İlaç ve kopolimer-ilaç konjugatına ait Floresans spektrumu.

Kopolimer-ilaç konjugatının ölçüm çalışmaları için tekrar sayısı  $n=3$ 'tür. Bu spektrumlarda 427 nm'deki pik yüksekliği yayınma değeri olarak yorumlanmış ve elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4.43'de verilmiştir. SH3'de görüldüğü gibi hiç floresans özelliğine sahip bir madde bulunmadığından 427 nm'de hiç bir pik gözlenmemiştir. Ancak 5-FU ile konjugasyondan sonra 5-FU'dan gelen flor gurubundan dolayı 427 nm'de pik gözlenmiştir. Konjugasyon mekanizmasını aydınlatmak amacı ile yapılan bu karakterizasyon yöntemi, konjugasyonun başarılı bir şekilde yapıldığını ispatlamıştır.

#### **4.2. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Yapı-Özelliklerinin İncelenmesi**

Bu çalışmada kontrollü yaşayan serbest radikal polimerleşmesi çeşitlerinden NMP yöntemi kullanılarak poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerler sentezlenmiştir. NMP yönteminde hem bimoleküler hem de unimoleküler başlatıcılar kullanılabilir. Bu çalışmada bimoleküler azo başlatıcı kullanılmıştır. Bimoleküler azo başlatıcı kullanılmasının en önemli sebebi bimoleküler azo başlatıcının çözelti ortamında polimer sentezlenebilmesine olanak sağlamasıdır. Bu çalışmada BPO bimoleküler başlatıcı olarak kullanılmasına karar verilmiştir ve radikal tutucusu olarak 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) kullanılmıştır. Gerçekleşen kopolimerizasyon sonucunda istenilen yapısal özelliklere sahip malzeme elde edilmiştir.

Tez kapsamında, anti kanser ve antitümör özelliği gösteren; anhidrit içeren poli(MA-*ard*-NVP) seçilmiştir. Seçilmiş bu polimer, karboksilik asit içerdiğinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemlerde çok önemli rola oynar [142]. Nitroksit aracılığı ve *in-situ* polimerizasyon yöntemi ile gerçekleşen kopolimerizasyon, karakterize edilmiştir.

Bu tez kapsamında NMP tekniği ile sentezlenen ardışık yapıya sahip poli(MA-*ard*-NVP) kopolimeri, anti kanser ilacı ile konjugasyonu yapılmıştır. Sentezlenen yapının karakterizasyon işlemleri ATR-FTIR, NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ve  $^{19}\text{F}$ ), XRD, Fluorescence, HR-Raman, UV-Vis, DSC, TGA, DSC, MALDI-TOF-MS cihazlar kullanarak tespit edilmiştir.

#### 4.2.1. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerlerin Bileşiminin ve Reaktiflik Oranlarının Bulunması

Elementel analiz sonuçları kullanılarak; Nitroksit Aracılığıyla Kontrollü Polimerizasyonu (NMP) ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerin kompozisyonu, aşağıdaki eşitlik (12) yardımıyla bulunmuştur. MA-NVP monomer birimlerin molar derişimler cinsinden monomer besleme oranları Tablo 4.6 içinde SH1T, SH2T, SH3T, SH4T ve SH5T isimleri ile verilen kopolimerler (M<sub>1</sub> (NVP) ve M<sub>2</sub> (MA)) 5 farklı kompozisyonda verilmiştir. Elementel analiz verileri; monomerlerdeki NVP birimine ait olan N, azot içeriği kullanılarak aşağıdaki eşitliğe (12) göre hesaplanmıştır [110].

$$m_1 = M_2 / [(A_N/B) - \Delta M \cdot 10^{-2}] \dots \dots \dots (12)$$

A<sub>N</sub>, azot (N) atomun mol kütlesi; B ise kopolimerlerde N (azot) içeriğidir (%);  $\Delta M = M_1 - M_2$  olarak hesaplama yapılmaktadır.

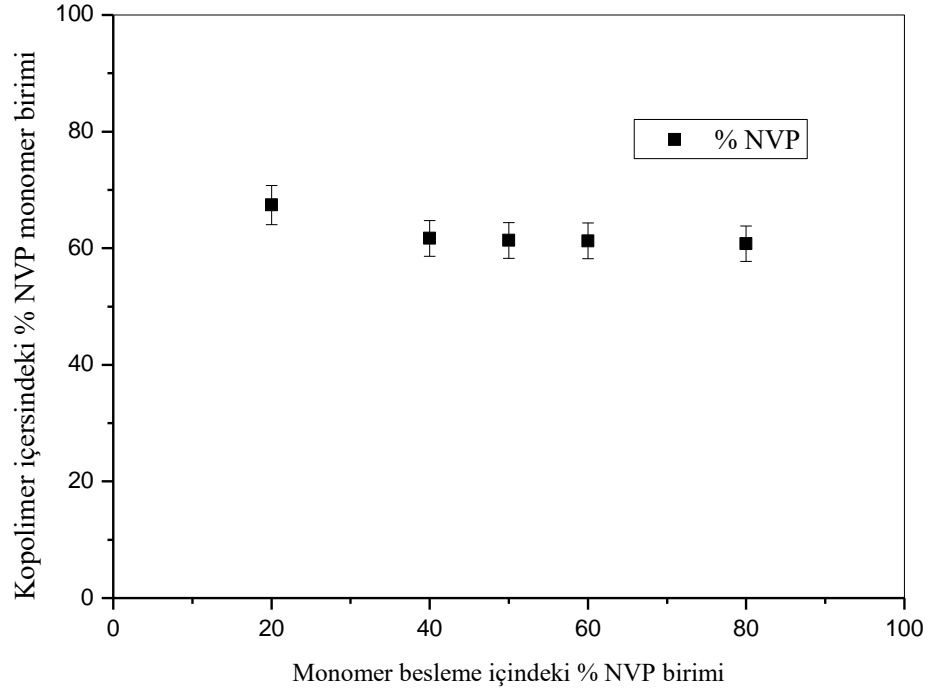
Tablo 4.7. Beş farklı kompozisyondaki NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerine ait elementel analiz, polimerizasyon verimi ve kopolimerizasyon kompozisyonu

Monomer besleme oranı [M <sub>1</sub> ]:[M <sub>2</sub> ] NVP:MA	Elementel Analiz (%)			Polimerizasyon verimi (%)	Kopolimer kompozisyonu [m <sub>1</sub> ]:[m <sub>2</sub> ] NVP:MA	
	C	H	N			
SH <sub>1</sub> T	53.32	4.97	3.78	1.64	72.57	27.48
SH <sub>2</sub> T	54.81	5.03	4.24	3.12	69.10	30.89
SH <sub>3</sub> T	56.06	5.52	4.87	8.77	64.25	35.75
SH <sub>4</sub> T	56.52	5.16	3.98	7.22	71.51	28.49
SH <sub>5</sub> T	54.90	5.25	4.64	1.48	65.95	34.05

(Kopolimerizasyon Verim  $\leq 10\%$ )

Nitroksit aracılığıyla kontrollü polimerizasyon yönteminde; kopolimerizasyona ait özelliklerin hesaplanmasında % polimerizasyon verimi  $\leq 10$  düşük tutularak; düşük verim için geçerli olan eşitlikler kullanılmıştır. Tablo 4.7'den

elde edilen kopolimer kompozisyonuna bağlı olarak NVP birimi gözönünde bulundurularak şekil 4.44'de çizilmiştir.



Şekil 4.44. N-Vinil pirolidon monomer birimlerinin (NVP) monomer besleme ve kopolimer içersindeki oranı, 25 °C, *p*-dioksan içersinde. (NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin kompozisyonu (MA:NVP oranları 80:20, 60:40, 50:50, 40:60 ve 20:80).

Monomer besleme ve kopolimer içersindeki NVP birimleri içersinde genel olarak gözlenen ardışık kopolimer yapılarının göstermiş olduğu eğilimi göstermektedir [76]. Kopolimere ait NVP ve MA monomer birimlerine ait reaktivlik oranları; monomer besleme oranları ve kopolimer oranları kullanılarak bilinen lineer yöntemlere göre Kelen-Tüdös [KT](13)[184], Mayo-Lewis [ML](14) Fineman-Ross [FR](15) ve Inverted Fineman-Ross [IFR](16) [185] hesaplanmıştır.

$$\eta = (r_1 + r_2/\alpha) \xi - r_2/\alpha \dots \dots \dots (13)$$

$$r_2 = f \left( \frac{r_1 f + 1}{F} - 1 \right) \dots \dots \dots (14)$$

$$G = r_1 H - r_2 \dots \dots \dots (15)$$

$$\frac{G}{H} = -r_2 \left( \frac{1}{H} \right) + r_1 \dots \dots \dots (16)$$

Yukarıda verilen eşitlikleri kullanmak için, Tablo 4.7’de eşitliklerde kullanılan ilgili değerler hesaplanarak verilmiştir. Kelen-Tüdös (KT) kopolimer bileşimindeki simetrik olmayan karakteri önlemek amacıyla yeni parametreler,  $\eta$  ve  $\alpha$  tanımlanmıştır. Kelen-Tüdös (KT) , Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR), Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitlikleri kullanılarak grafikler elde edilmiştir ve hesaplanan değerler Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Farklı kompozisyona sahip NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerine ait Fineman-Ross, Kelen-Tüdös, Mayo-Lewis ve Inverted Fineman-Ross eşitliklerini kullanılması için hazırlanan büyüklükler.

Monomer besleme oranı [M1]:[M2] NVP:MA	$F = \frac{M1}{M2}$	$f = \frac{m1}{m2}$	$G = \frac{F(f-1)}{f}$	$H = \frac{F^2}{f}$	$\alpha + H$	$\eta = \frac{G}{\alpha + H}$	$\xi = \frac{H}{\alpha + H}$	$\frac{G}{H}$	$\frac{1}{H}$
SH1	0.25	0.378	-0.411	0.165	2.425	-0.169	0.068	-2.49	6.06
SH2	0.666	0.447	-0.823	0.992	3.252	-0.253	0.305	-0.829	1
SH3	1	0.556	-0.798	1.798	4.058	-0.196	0.443	-0.443	0.556
SH4	1.5	0.398	-2.268	5.653	7.913	-0.286	0.714	-0.401	0.176
SH5	4	0.516	-3.751	31	33.26	-0.112	0.932	-0.121	0.032

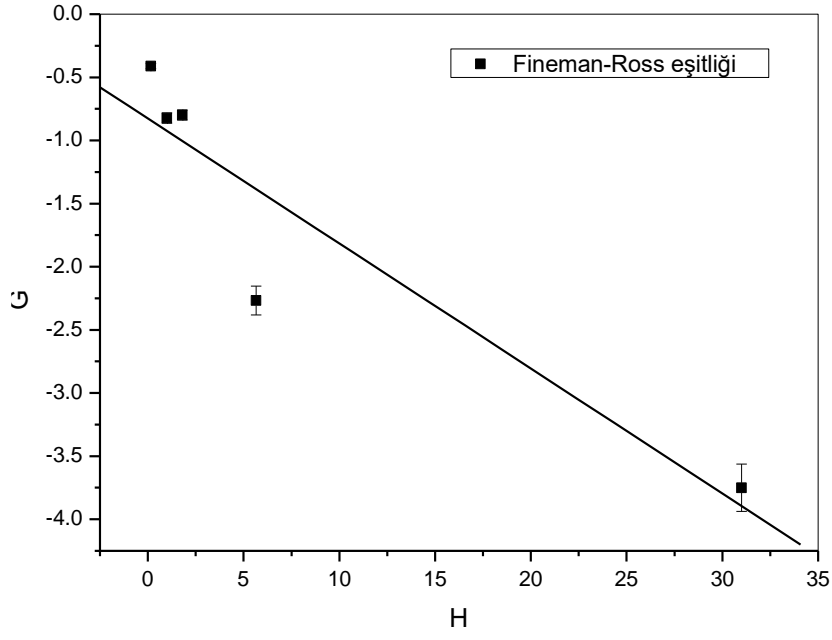
(Kopolimerizasyon Verim  $\leq 10\%$ )

F: monomerin besleme içindeki mol kesri

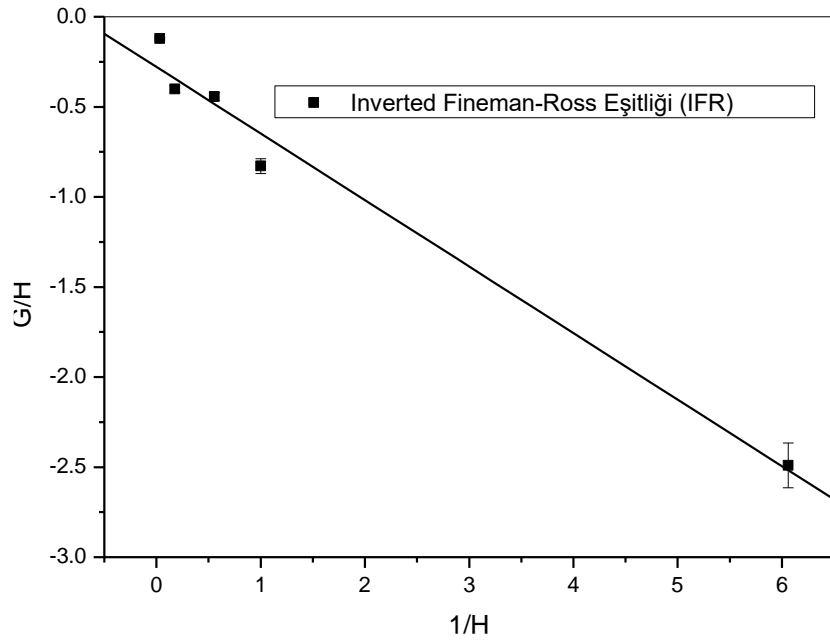
f: monomerin kopolimer içindeki mol kesri

$$\alpha = \sqrt{H_{max} H_{min}} = 2.26$$

$\alpha$  parametresi  $\eta$ - $\xi$  eksenleri boyunca verilerin daha homojen dağılımını gösteren bir değerdir. Inverted-FR denkleminde  $r_1$ , kesim noktasından ve  $r_2$  ise eğimden tayin edilmiştir. Denklem kullanılarak G değerlerine karşı F değerlerinin grafiği çizildiği zaman eğim  $r_1$ , kesim ise  $r_2$  değerini verir. KT eşitliğinde kullanılan  $\alpha$  değeri genellikle  $\alpha > 0$  dir.

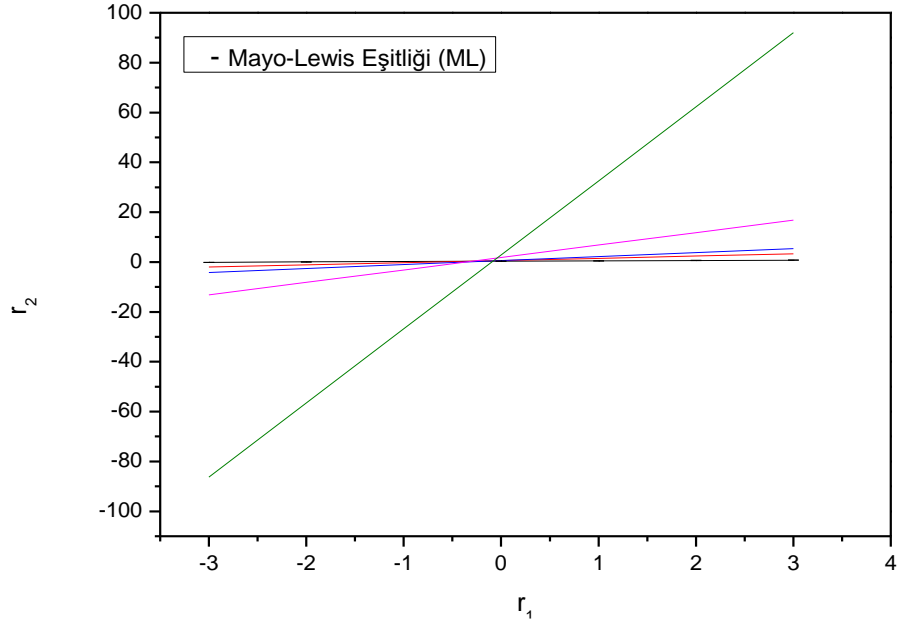


Şekil 4.45. Finemen-Ross (FR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.



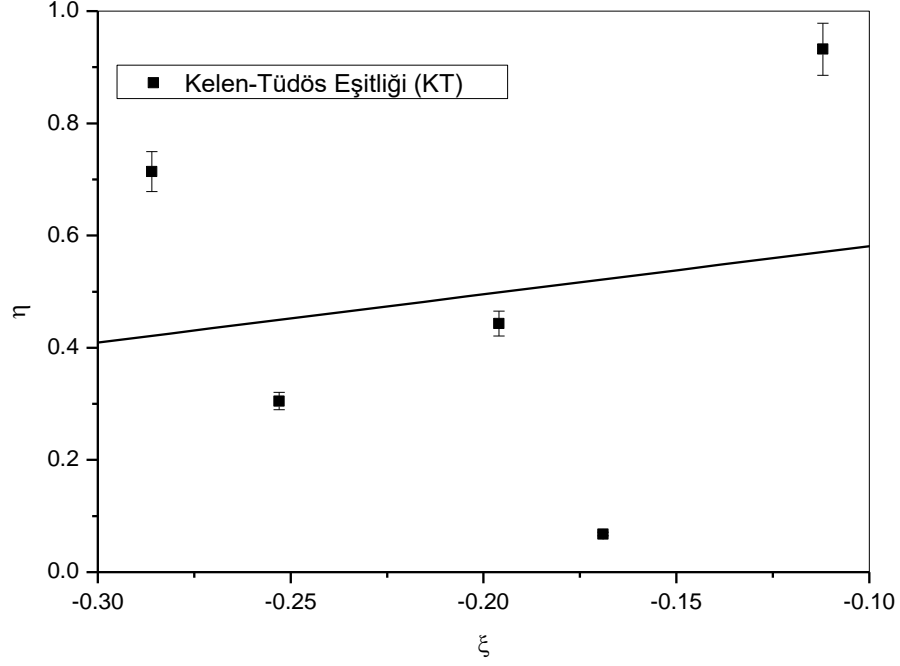
Şekil 4.46. Inverted Finemen-Ross (IFR) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.





Şekil 4.47. Mayo-Lewis (ML) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktivlik oranının hesaplanması.

Deneysel verilerden hesaplanan  $\xi$  değerlerine karşı  $\eta$ 'nin grafiği çizildiğinde  $r_1$  ve  $r_2$  değerleri eğim ve kesim noktalarından bulunmaktadır. Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) yöntemleri kullanılarak çizilen grafikler ve elde edilen reaktivlik oranları Tablo 4.8'de özetlenmiştir.



Şekil 4.48. Kelen-Tüdös (KT) eşitliği kullanılarak NVP ( $M_1$ ) ve MA ( $M_2$ ) monomer reaktiflik oranının hesaplanması.

NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerine ait kopolimerin reaktiflik sabitleri ( $r_1$  ve  $r_2$ ) Kelen-Tüdös (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) yöntemlerinden hesaplanarak ve Tablo 4.9'da verilmiştir. Bu eşitliklerine göre elde edilen değerler incelendiği zaman ML, FR ve IFR yönteminden elde edilen reaktiflik oranlarının birbirleri ile uyumlu ve doğrusal eğilim gösterdikleri gözlenmiştir. KT eşitliğinin kullanılarak çizilen grafik doğrusal davranış grafik göstermemektedir (Korelasyon katsayısı  $R^2=0.143$ ).

Ancak kullanılan yöntemlerden biri olarak sonuçları değerlendirilmiştir [164]. Kopolimerizasyon sistemlerinde monomer reaktiflik oranları hangi monomerin değerine göre polimer zinciri içerisinde daha istemli olarak bulunacağını göstergesi olarak alınmaktadır. Ancak bunun yanında  $r_1.r_2$  de kopolimerizasyon kompozisyonu ve bileşimine dair önemli bir diğer değerlendirme bilgisi vermektedir.  $r_1.r_2$  çarpımlarının 0'a yakın olduğu sistemler ardışık kopolimer yapısına uymaktadır. KT, FR, ML ve IFR yöntemlerinin her birinden elde edilen deneysel  $r_1.r_2$  sonuçları incelediğimiz zaman 0.048; 0.058; 0.013 ve 0.084 sırasıyla elde edilmiştir (Şekil 4.45-4.48).

Tablo 4.9. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*- NVP) kopolimerine ait reaktiflik oranlarının Kelen-Tüdös (KT) , Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) eşitliklerine göre hesaplaması.

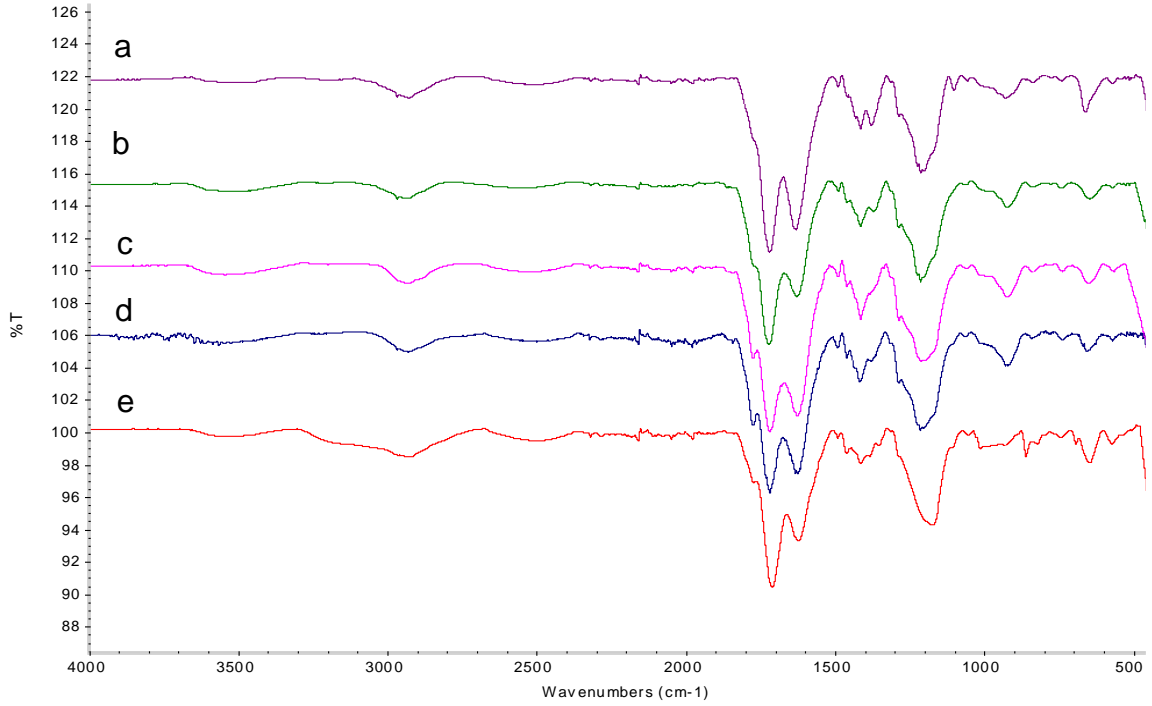
Kullanılan Yöntemler	$r_1$ (NVP)	$r_2$ (MA)	$r_1 * r_2$	$\frac{1}{r_1}$	$\frac{1}{r_2}$	$R^2$
ML	$0.102 \pm 0.096$	$0.574 \pm 0.159$	0.013	7.63	9.90	0.998
FR	$0.102 \pm 0.012$	$0.574 \pm 0.061$	0.058	9.80	1.72	0.679
IFR	$0.225 \pm 0.106$	$0.374 \pm 0.006$	0.084	4.44	2.67	0.783
KT	$0.443 \pm 0.421$	$3.10 \pm 2.40$	1.37	2.25	0.322	0.143

Farklı yöntemlerden elde edilen reaktiflik oranları incelendiğinde; NMP ile sentezlenen kopolimerde MA monomerin NVP monomerine göre reaktiflik oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Kopolimerizasyonda zincir büyüme basamaklarındaki MA monomerine ait olan birimler daha istemli olarak yer alarak devamında ise sonra NVP ait monomer birimleri, -NVP•'ye ilave edilmesi ile devam etmektedir. Bu çalışmada NMP yöntemi ile sentezlenen ardışık poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerleri ilk kez yapılmıştır ve literatürde benzeri bir çalışma yoktur.

#### 4.2.2. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının ATR-FTIR Analizleri

NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerin ATR-FTIR spektroskopisi ile yapısal karakterizasyonu yapılmıştır. Şekil 4.49 ve 4.50'de farklı monomer besleme mol oranlarında yapılan deneylerde ATR-FTIR spektrumları (MA:NVP=80:20; 60:40; 50:50; 40:60; 20:80) verilmiştir.



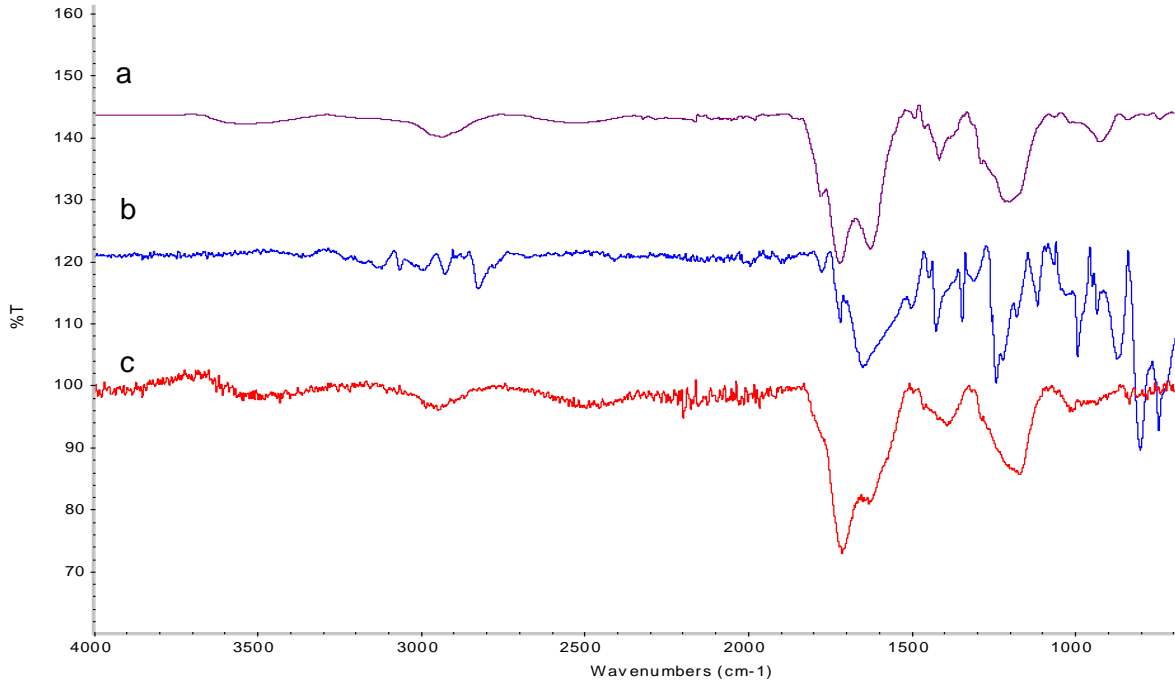
Şekil 4.49. MA:NVP: (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerine ait üst üste ATR-FTIR spektrumu.

NMP ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (ardışık kopolimerin) ATR-FTIR spektroskopisi ile farklı monomer besleme oranlarına sahip MA ve NVP'a ait absorpsiyon bantları ile incelenerek karakterize edilmiştir (Şekil 4.49-4.50). Kopolimer ait -C-N gerilme bandı  $3547\text{ cm}^{-1}$ , alifatik C-H gerilme bandı  $2934\text{ cm}^{-1}$ 'de,  $3050\text{ cm}^{-1}$ 'de ise N-H karakteristik bantları görülmektedir. Monomer birimlerine ait pikler detaylı olarak incelendiğinde ise önemli bantlar şu şekilde verilebilir.

MA'deki anhidrit halkasına ait  $1847$  ve  $1782\text{ cm}^{-1}$  civarındaki şiddetli absorpsiyon bandı görülmektedir. NVP'deki -C=O bandına ait  $1630\text{ cm}^{-1}$ 'de ve  $1730\text{ cm}^{-1}$  dalgaboylarında görülen absorpsiyon bandı NVP ait olan karbonile ait pikleri göstermektedir.  $1413\text{ cm}^{-1}$ 'de NVP dan gelen;  $1465\text{ cm}^{-1}$ 'de ise kopolimere ait -C=O...N kompleks yapılarından kaynaklanan pikler gözlenmektedir.

NVP ait RCONHR' amit pikine dair olan pikler  $1421\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N gerilmesi;  $1534\text{ cm}^{-1}$ 'de ikinci amit bandı ve  $3469\text{ cm}^{-1}$ 'de ise N-H gerilme bantları görülmüştür.  $1208\text{ cm}^{-1}$ 'de ise C-O-C'ye ait eterik gerilme bantları gözlenmiştir.  $1860\text{ cm}^{-1}$ 'de ise

anhidrit birimlerine ait reaksiyona girmeden kalan anhidrit karbonilleri bulunmaktadır [186]. Polimer ana zinciri üzerindeki C-C gerilme bantları ise  $930\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmektedir [171]. Ayrıca  $2969\text{ cm}^{-1}$ 'de TEMPO dan gelen  $-\text{CH}_3$  gurubunun gerilme bantları ve  $1373\text{ cm}^{-1}$ 'de ise TEMPO dan gelen  $-\text{CH}_3$  gurubunun bükülme bantları görülmüştür [187].

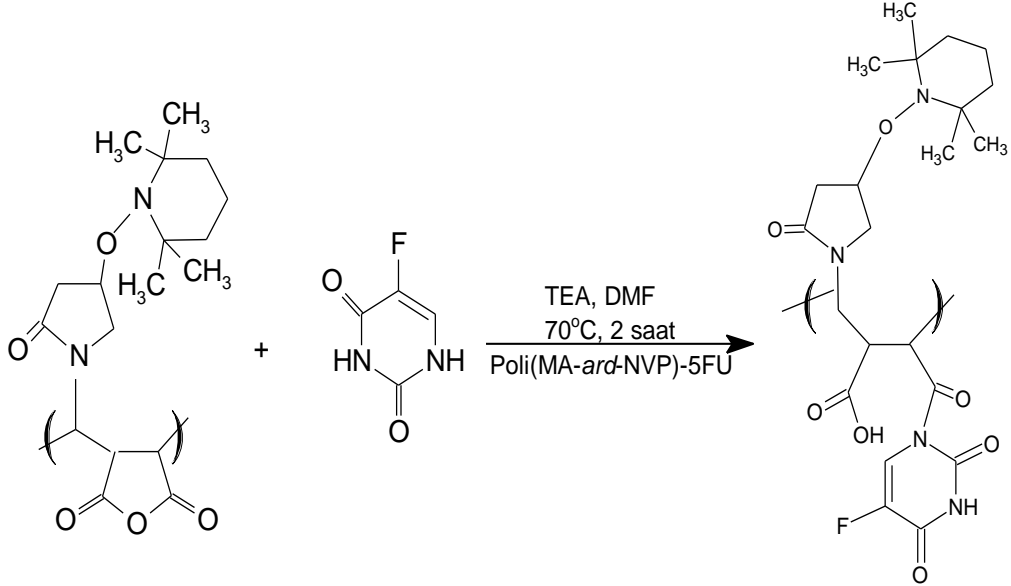


Şekil 4.50. (a) NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP)(50:50), (b) 5-FU, (c) kopolimer konjugatına ait ATR-FTIR spektrumu.

Fonksiyonel gruplara sahip suda çözünür özellikteki anhidrit içeren kopolimerlerin oluşturdukları yapıların içerisinde en iyi sonuçlar yapının 50:50 besleme oranında sentezlenen kopolimere aittir. FTIR spektrumunda (Şekil 4.50) gözlenen karakteristik bazı bantların kayması, yeni bantların oluşumu ve şiddetlerinin takip edilmesi ile açıklanabilmektedir. Nitroksit aracılığıyla sentezlenen kopolimere ait bantların şiddetlerindeki değişim özellikle  $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$  bölgelerinde olan değişiklikler en fazla 50:50 besleme oranında gözlenmiştir. Kopolimerin yapısı değişen monomer besleme oranlarında ATR-FTIR spektrumları ile doğrulanmıştır [9, 188].

Yapısal karakterizasyonu ATR-FTIR ile yapılan kopolimer yapısı trietilamin (TEA) katalizörü varlığında kimyasal olarak modifiye edilerek nitroksit aracılığıyla sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)(50:50)-5-FU konjugatı hazırlanmıştır. Bu polimer-ilaç konjugatının analizi amaçlı kopolimer, 5-FU ve polimer-5-FU konjugatının (Şekil 4.50) ATR-FTIR spektrumları incelenerek yapısal analizi ve bağlanma mekanizması önerilmiştir. 5-FU ait 939  $\text{cm}^{-1}$ 'de;  $-\text{CH}=\text{CF}-\text{C}=\text{O}$  trans pozisyonundaki şiddetli düzlem dışı eğilme pikleri; 1169  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O; 1291  $\text{cm}^{-1}$ 'de HC=C-F; 1631  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-N; 1713 C=O ve 2995  $\text{cm}^{-1}$ 'de ise N-H bantları görülmüştür.

NMP ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (50:50)-5-FU ile konjugasyonundan sonra kopolimer ve 5-FU ya ait olmayan ve amitleşme (-CONHR) reaksiyonu (Şekil 4.50c) sonucu yeni oluşan pikler önerilen mekanizma için önemli bulgular olarak değerlendirilmiştir. 1389  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-N kuvvetli bükülme ve C-N' ait 2204  $\text{cm}^{-1}$ 'de ise orta şiddetli pikler görülmüştür [172]. Ayrıca polimer-ilaç yapısında 832  $\text{cm}^{-1}$ 'de 5-FU'dan gelen  $-\text{CH}=\text{CF}-\text{C}=\text{O}$  trans pozisyonundaki şiddetli düzlem dışı eğilme pikleri görülmektedir.



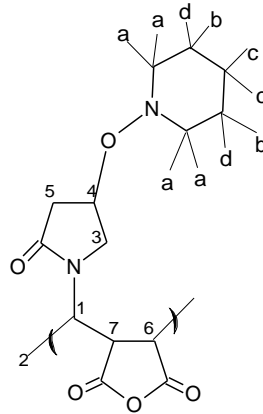
Şekil 4.51. NMP yöntemini kullanarak kanser terapi ajanı 5-FU ile poli(MA-*ard*-NVP) (50:50) kopolimerinin konjugasyon mekanizması.

3549  $\text{cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan yeni; O-H gerilmesi moleküllerarası polihidroksi yapısına ait O-H gerilmesi görülmektedir. Keskin kabul edilebilecek bu bant polimerlerde

bulunan -OH zincir uzunluğuna bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca 3400-3200  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenen geniş pik H-bağlı olan polimerik yapılardaki -NH veya -CONH<sub>2</sub> olarak ifade edilebilmektedir. Bu bölgede ayrıca karbonil bantlarına ait (1600-1900  $\text{cm}^{-1}$  arasında) absorpsiyon bantlarının katlı tonları bulunabilir (Şekil 4.50).

#### 4.2.3. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>1</sup>H-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

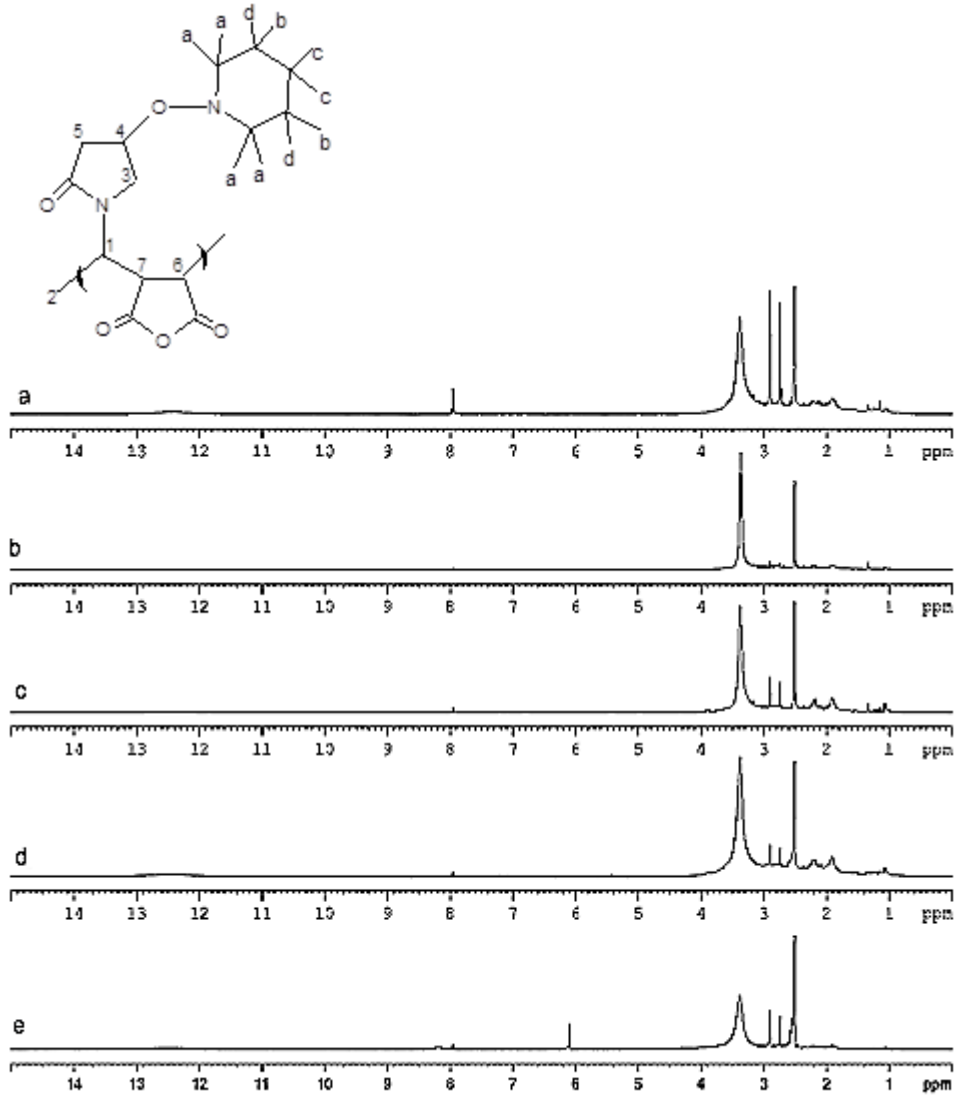
NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin yapısal karakterizasyonu amacıyla önce <sup>1</sup>H-NMR spektrumu alınmıştır. Polimerler ve diğer bütün maddelerin analizi *d*-DMSO'da yapılmıştır. Şekil 4.52'den 4.57'ye kadar farklı monomer besleme oranlarında sentezlenen kopolimerlere ait yapı analizi için temel fonksiyonel grupların <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda gözlemlendiği kimyasal kayma (ppm) değerleri incelenmiştir



Şekil 4.52. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin H- (Hidrojen) atomlarının işaretlenmiş hali.

Kopolimer yapının <sup>1</sup>H-NMR ile aydınlatılması amacıyla şekil 5.52'de işaretlenerek verilmiştir. Monomer besleme oranları göz önüne alınarak yapılan karakterizasyon yapılmıştır. Buna göre; NVP monomer birimine ait 1H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>:1.40-1.60 ppm aralığında; 4H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 1.80-2.35 ppm; 3-5H  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 2.80-2.95 ppm; 2H  $\delta$  -CH: 4.9-5.5 ppm; C=O...N-H  $\delta$  7.9 ppm kimyasal kaymalar izlenmiştir. MA birimine ait 6,7H $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 3.40-3.60 ppm de ve ayrıca MA biriminin kısmi hidrolizi nedeniyle H-NMR

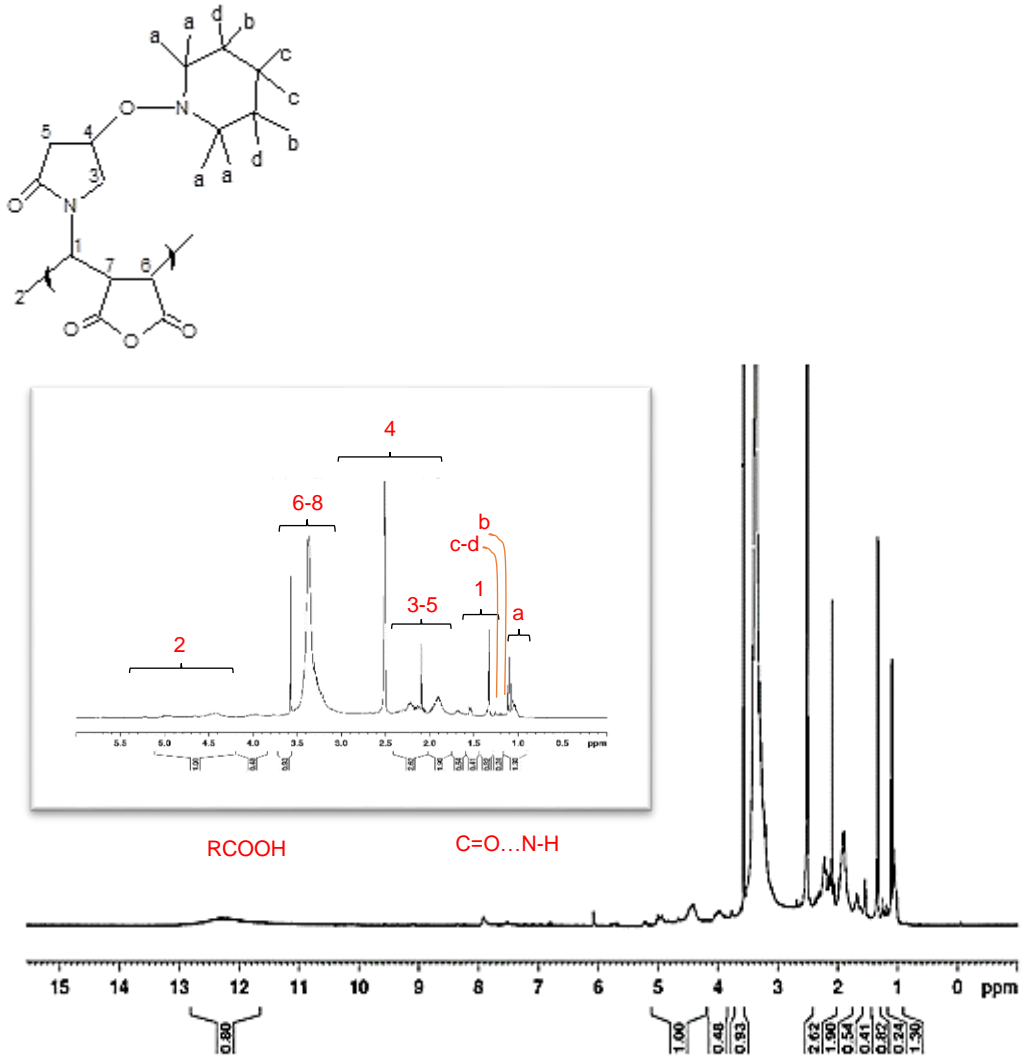
spektrumunda  $\delta$  12.5 ppm civarında RCOOH'a ait piki görülmüştür. Nitroksit aracılığıyla sentezlenen kopolimerde, TEMPO' a ait pikler bu şekilde açıklanabilir: aH  $\delta$  -CH<sub>3</sub>: 1.05-1.09 ppm; bH  $\delta$  -CH: 1.18-1.22 ppm; ; cH  $\delta$  -CH: 1.23-1.36 ppm; ; dH  $\delta$  -CH: 1.08-1.1 ppm [187, 189].



Şekil 4.53. MA:NVP=(a) 20:80, (b)40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrum.

NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) ve elde edilen yapının <sup>1</sup>H-NMR spekturunu Şekil 4.53'de verilmiştir. MA:NVP 50:50 oranında sentezlenen kopolimerinin daha detaylı incelenmesi için Şekil 4.54'de açık şekli verilmiştir.

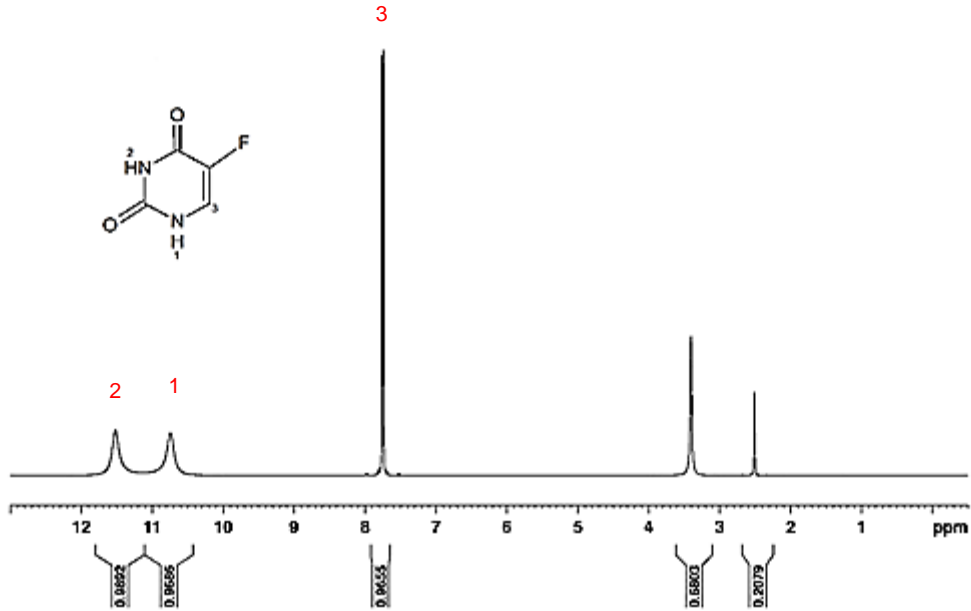




Şekil 4.54. MA:NVP= 50:50 monomer oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerine ait 25 °C de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu.

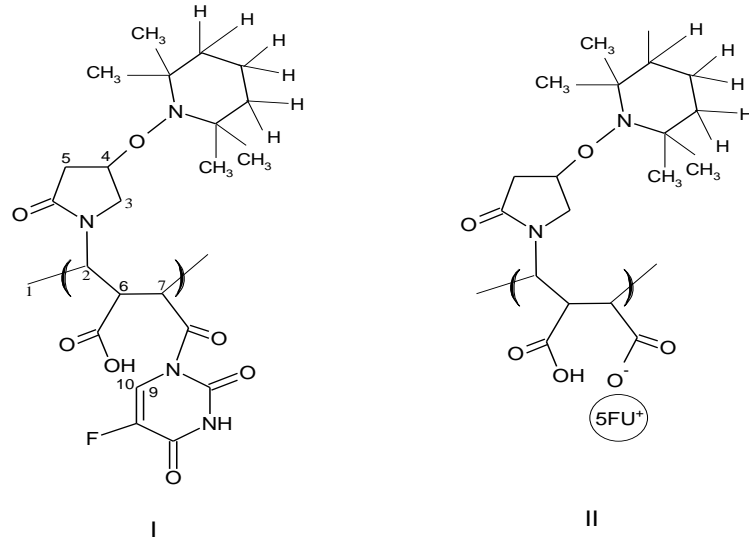
NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer içinde monomer besleme mol oranlarının değişimi  $^1\text{H-NMR}$  ile takip edilmiştir. Karakteristik piklerin yerleri ve şiddetleri monomer miktarına bağlı olarak değişmiştir (Şekil 4.54). NMP Yöntemi ile Sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatı ve bağlanma şekli  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$  kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. 5-FU'ya ait önemli pikler şu şekilde verilmiştir (Şekil 4.55). 1H  $\delta$  N-H:10.80 ppm; 3H  $\delta$  CH=CF: 7.76 (dublet) ve 2H  $\delta$  N-

H: 11.60 ppm.  $\delta$  2.5 ppm *d*-DMSO piki ve  $\delta$  3.5 ppm deki pik *d*-DMSO içindeki suya aittir.

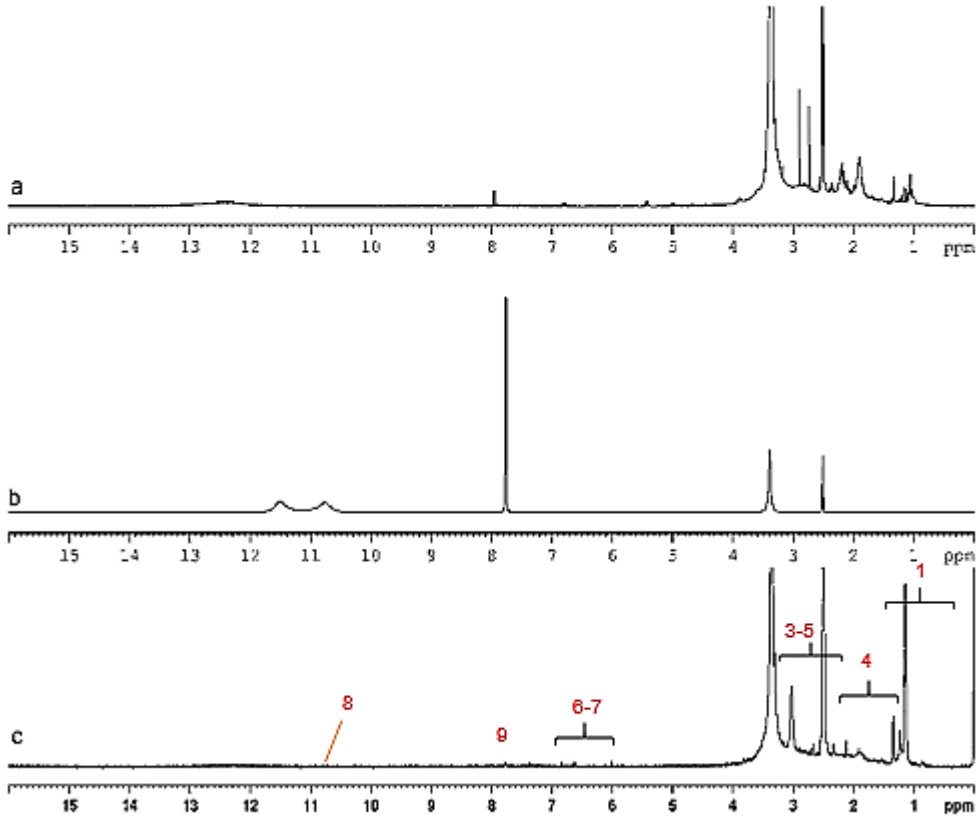


Şekil 4.55. 5-FU'ye ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer ve kanser tedavi ilacı olan 5-FU konjugasyonu; kopolimer serisi içerisinde en uygun besleme oranına sahip olan 50:50 kopolimeri alınarak reaksiyon trietilamin (TEA) varlığında gerçekleştirilmiştir. Yapı-özellik ve modifikasyonun gerçekleştiği mekanizmanın bulunması amacıyla <sup>1</sup>H-NMR detaylı olarak incelenerek aşağıda önemli kimyasal kaymalar verilmiştir (Şekil 4.56).



Şekil 4.56. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait protonların (H) ların işaretlenmiş hali.

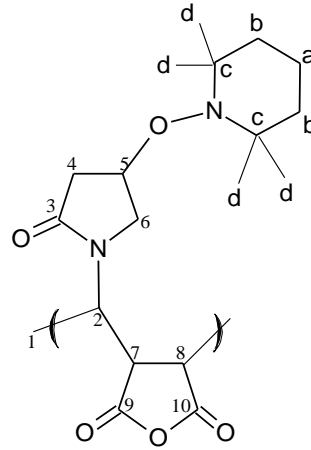


Şekil 4.57. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA-*ard*-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

Modifikasyon sonrasında NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait önemli kimyasal kayma değerleri şu şekilde verilebilir (Şekil 4.56). NVP ait 1H  $\delta$  CH<sub>2</sub>:1-1.3 ppm; 4H  $\delta$  CH<sub>2</sub>:1.7-2.2 ppm; 3-5H  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 2.60-3.10 ppm; MA birimine ait; 10 H  $\delta$  C-OH: 3.3 ppm; 6-7 H  $\delta$  -CH: 6.7-6.9  $\delta$  ppm, 5-FU ya ait 9H  $\delta$  CH=CF: 7.9 ppm; 8H  $\delta$  N-H: 11.5 ppm. Bu sonuçlara göre; önerilen mekanizma amitleşme üzerinden gitmektedir. Nitroksit aracılığıyla sentezlenen kopolimer ve 5-FU orijinal piklerinin kimyasal kayma değerleri değişime çok fazla uğramayarak pik şiddetlerinde değişimler gözlenmiştir (şekil 4.57) [83, 190].

#### 4.2.4. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerlerin ve Kopolimer-İlaç Konjugatının <sup>13</sup>C-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

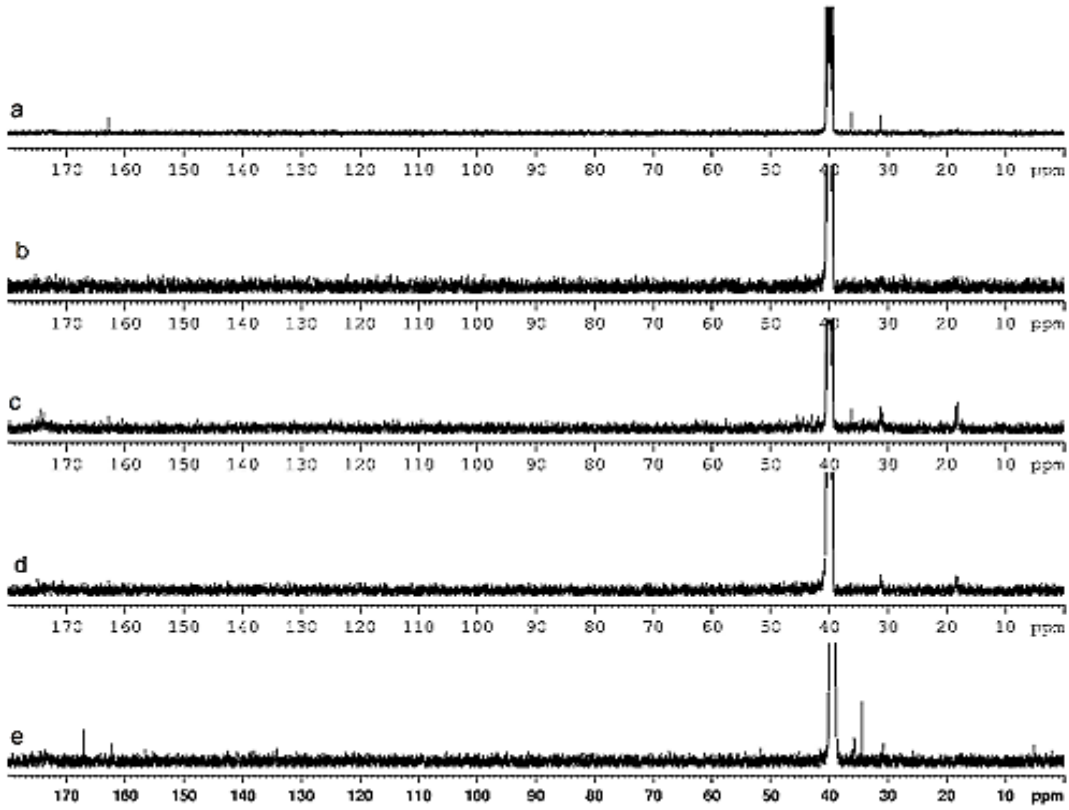
NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerin yapı-özellik karakterizasyonu amacıyla önce <sup>13</sup>C-NMR spektrumu alınmıştır. Kopolimerler ve sentezlenen türlerin NMR analizi *d*-DMSO'da yapılmıştır. Şekil 4.58-4.64'de farklı monomer besleme oranlarında sentezlenen kopolimerlere ait yapı analizi için temel fonksiyonel grupların <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda gözlemlendiği kimyasal kayma (ppm) değerleri incelenmiştir.



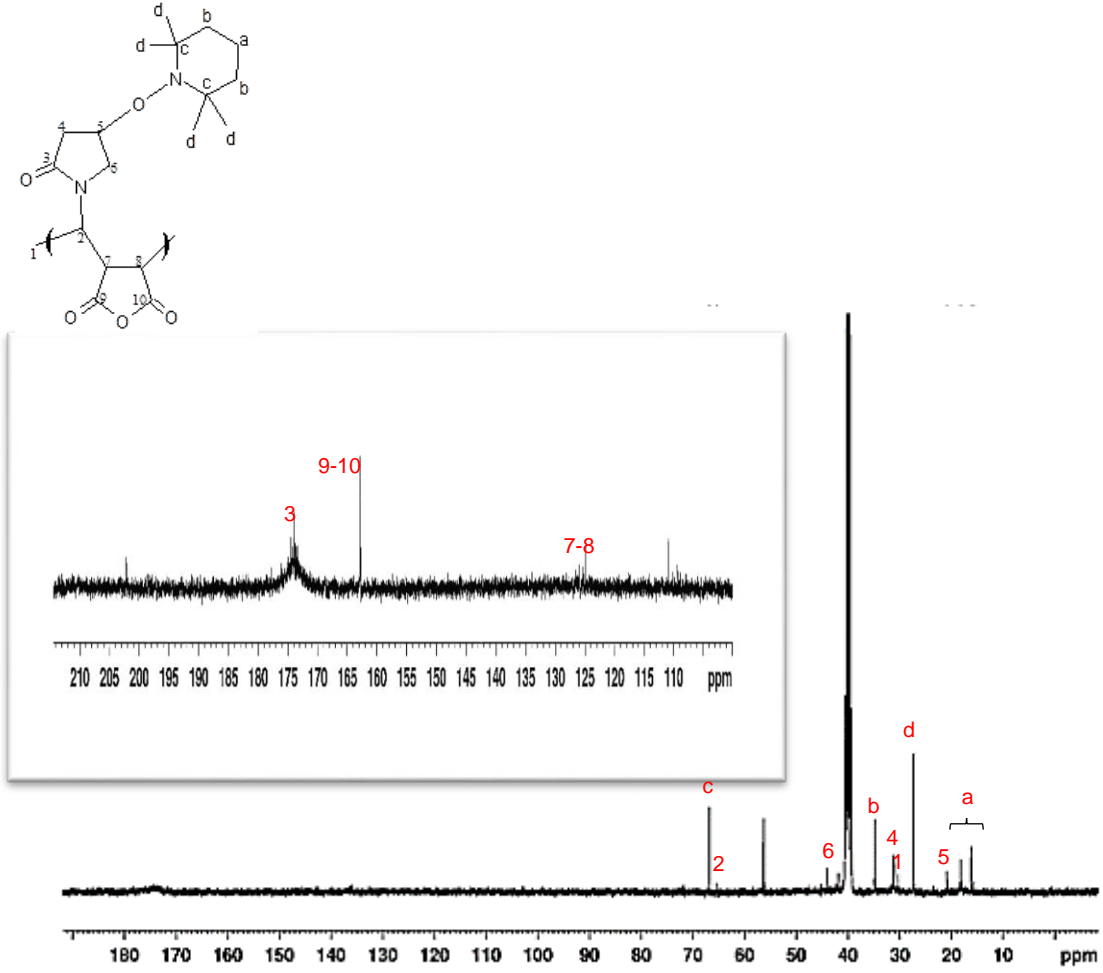
Şekil 4.58. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerinin C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş hali.

NVP birimine ait <sup>13</sup>C-NMR piklerinin kimyasal kayma sonuçları aşağıda verilmiştir. Kopolimer yapının <sup>13</sup>C-NMR ile aydınlatılması amacıyla Şekil 4.58 'de işaretlenerek

verilmiştir. Monomer besleme oranları göz önüne alınarak yapılan karakterizasyonu yapılmıştır. Buna göre; NVP monomer birimine ait 5C  $\delta$  -CH: 19 ppm, 1C  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 31 ppm; 4 C  $\delta$  -CH<sub>2</sub>: 32 ppm; 6C  $\delta$  CH<sub>2</sub>: 41 ppm, 2C  $\delta$  C-N: 57 ppm; 3C  $\delta$  C=O-N: 175 ppm'de MA ait pikler; 7-8C  $\delta$  CH:128 ppm; 9-10 C  $\delta$  C=O: 164 ppm. Nitroksit aracılığıyla kontrollü polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen kopolimerin <sup>13</sup>C-NMR baktığımızda, TEMPO ait pikler bu şekilde açıklanmıştır: dC  $\delta$  CH<sub>3</sub>: 29 ppm; cC  $\delta$  CH:57ppm; ; bC  $\delta$  CH<sub>2</sub>:36 ppm ve aC  $\delta$  CH:15-17 ppm'de gözlenmiştir.

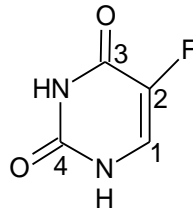


Şekil 4.59. MA:NVP (a) 20:80, (b) 40:60, (c) 50:50, (d) 60:40, (e) 80:20 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimerlerinin toplu olarak verildiği 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup>C-NMR spektrumu.

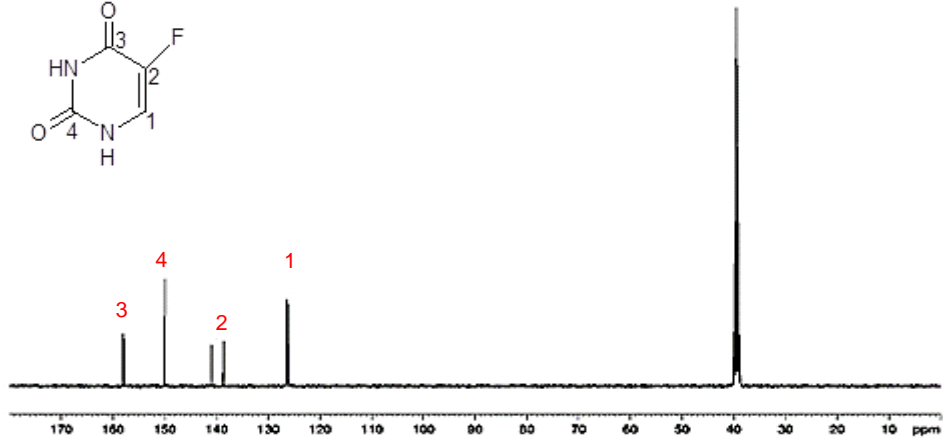


Şekil 4.60. MA:NVP=50:50 monomer oranında NMP yöntemi ile sentezlenen Poli(MA-*ard*-NVP) kopolimere ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

Toplu olarak  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumuna (Şekil 4.59) bakıldığı zaman; kompozisyon olarak pik şekli, şiddeti ve kimyasal kayma değerleri göz önüne alındığında NMP yöntemi ile sentezlenen 50:50 oranında MA:NVP kopolimer kompozisyonu konjugasyon işlemleri için uygun olarak seçilmiştir.

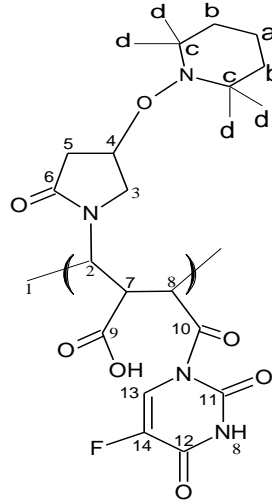


Şekil 4.61. 5-FU'ye ait C (Karbon) atomlarının işaretlenmiş hali.



Şekil 4.62. 5-FU'ye ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

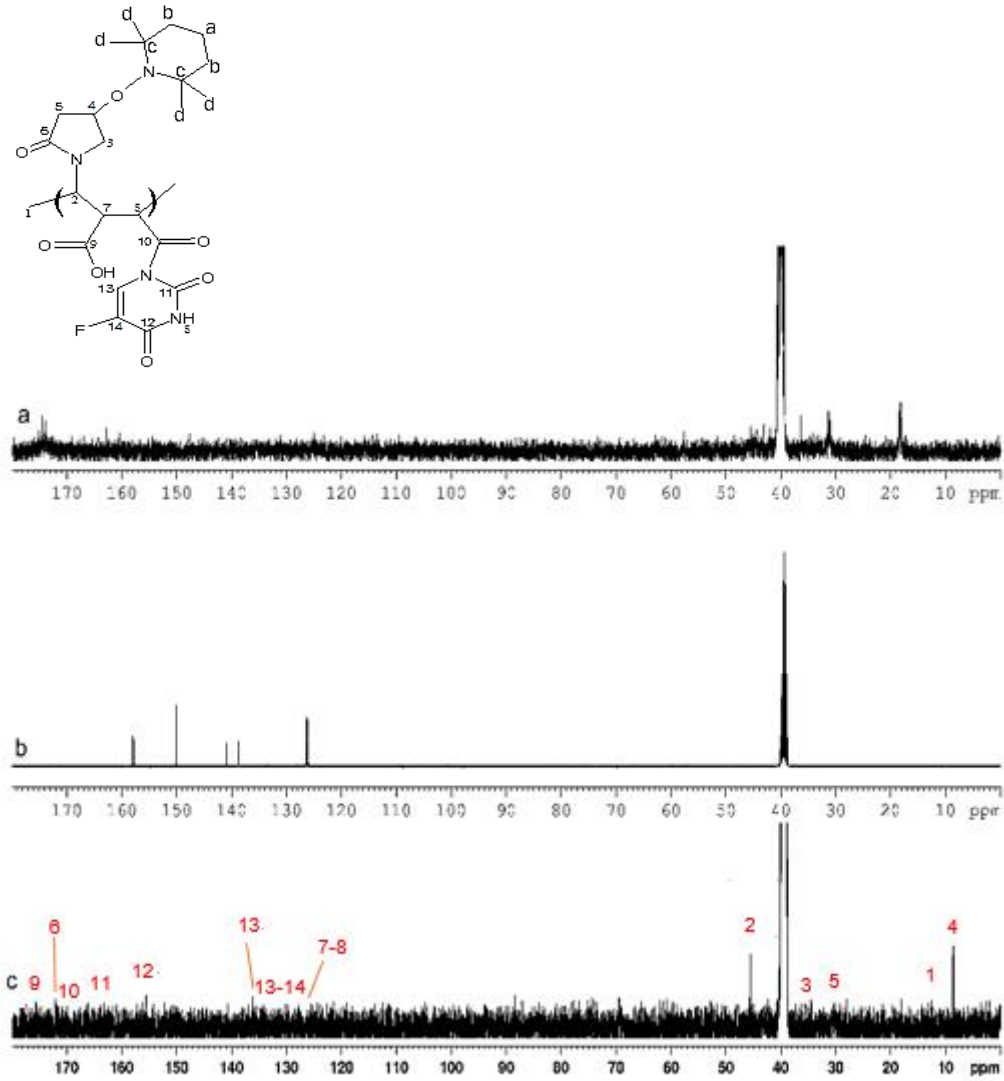
5-FU ilacına ait önemli pikler şu şekilde verilmiştir.  $\delta$ 39 ppm *d*-DMSO piki, 1C  $\delta$  C-H:126 ppm C1-C2  $\delta$  -C=C-: 138 ppm; 2C  $\delta$  C-C-F: 140 ppm; 4C  $\delta$  C=O-N-H: 150 ppm; 3C  $\delta$  C=O N-H: 157 ppm [191] (Şekil 4.61 ve 4.62).



Şekil 4.63. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait karbon atomlarının işaretlenmiş hali.

Konjugasyona ait toplu olarak verilen şekil üzerinden bağlanma mekanizması ve yapı-özellik analizi yapılmış ve önemli kimyasal kaymalar verilmiştir (Şekil 4.63 ve 4.64). Buna göre; NVP monomerine ait; 4C  $\delta$  CH:8.63 ppm; 1C  $\delta$  CH<sub>2</sub> 17 ppm,; 5C

$\delta$  CH<sub>2</sub>: 32 ppm; 3C  $\delta$  CH<sub>2</sub> : 37 ppm; 2C ana zincirde  $\delta$  CH<sub>2</sub>:48 ppm; MA monomerine ait 7-8C  $\delta$  CH:127 ppm; 13C-14C  $\delta$  C=C: 137 ppm, 13C  $\delta$  C=C-H: 138 ppm; 14  $\delta$  C=C-F: 151 ppm; 12C  $\delta$  C=O: 158 ppm 11C  $\delta$  C=O: 164 ppm; 10C  $\delta$  C=O: 173 ppm; 6C  $\delta$  C=O: 178 ppm; 9C  $\delta$  C=O-OH: 183 ppm [176].

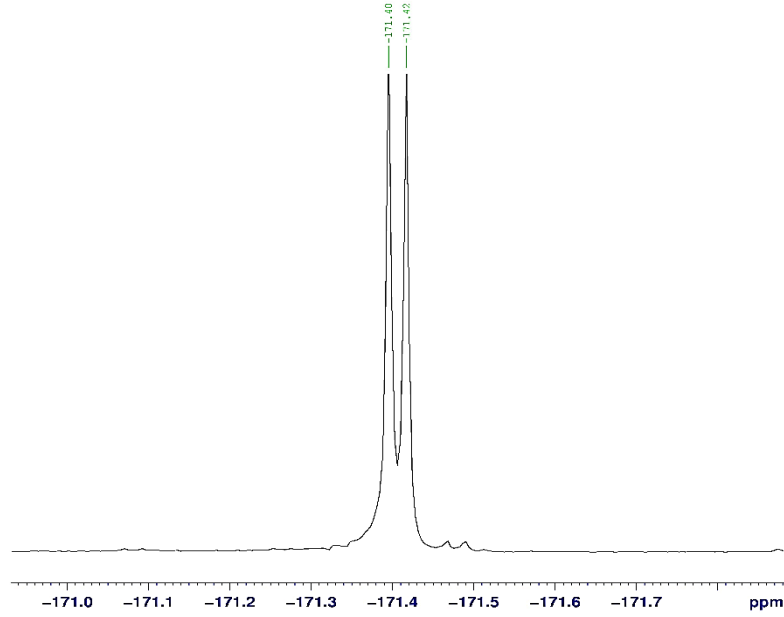


Şekil 4.64. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA-ard-NVP) (50:50) kopolimeri, (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>13</sup>C-NMR spektrumu.



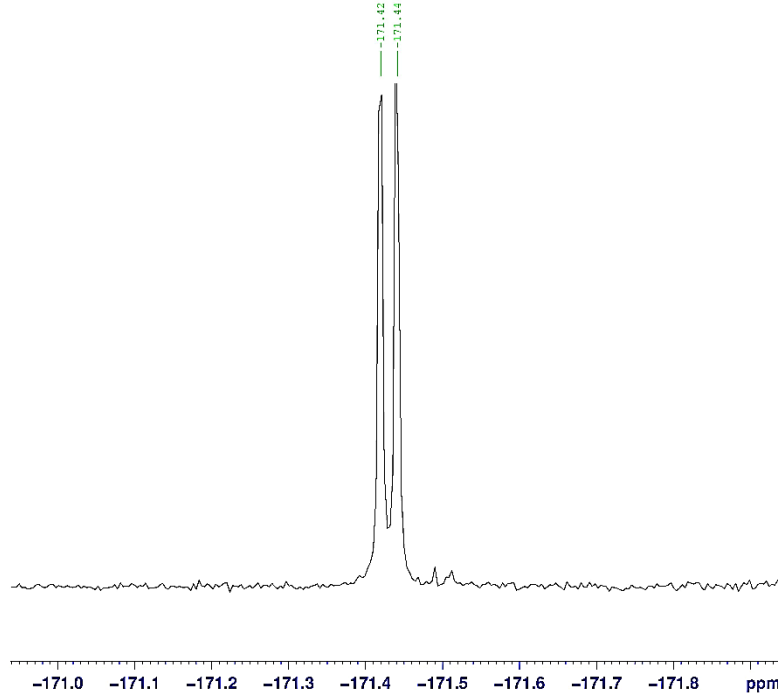
#### 4.2.5. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimer-İlaç Konjugatının<sup>19</sup>F-NMR Spektroskopisi Çalışmaları

5-FU ve polimer- 5-FU konjugatı içerisindeki florü belirleyebilmek ve kopolimer-ilaç bağlanma mekanizmasını açıklayabilmek amacıyla; <sup>19</sup>F-NMR analizleri yapılmıştır. Bu analizler sonucunda alınan spektrumlar Şekil 4.65 ve 4.66'de verilmiştir.



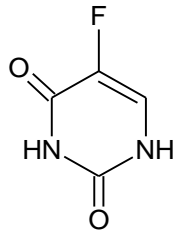
Şekil 4.65. 5-FU'ye ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan <sup>19</sup>F-NMR spektrumu.

5-FU birimine ait <sup>19</sup>F-NMR piklerinin kimyasal kayma sonuçları aşağıda verilmiştir. 5-FU yapının <sup>19</sup>F-NMR ile aydınlatılması amacıyla Şekil 4.65-4.66 'da verilmiştir. 5-Florourasil ve poli(MA-*ard*-NVP)-5-FU kopolimerinin konjugatı göz önüne alınarak karakterizasyonu yapılmıştır.

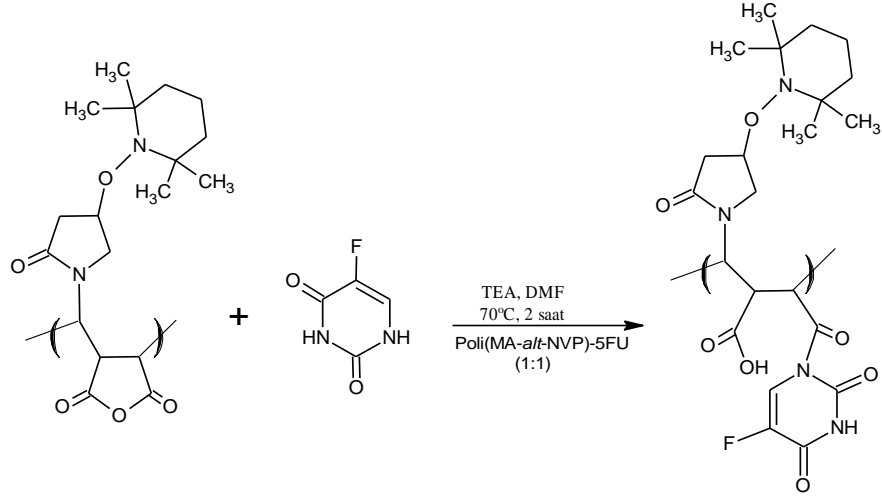


Şekil 4.66. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait 25 °C'de *d*-DMSO içerisinde alınan  $^{19}\text{F}$ -NMR spektrumu.

Buna göre; 5-FU birimine ait  $-\text{C}=\text{C}-\text{F}$   $\delta$ : -171.40 ppm'de ve poli(MA-*ard*-NVP)-5-FU kopolimerinin konjugasyonuna ait pikler; -171.38 ppm'de gözlenmiştir [177, 179].  $^{19}\text{F}$ -NMR dan gelen sonuçlara göre konjugasyon işleminden sonra flor gurubuna ait pik'de çok fazla kimyasal kayma gözlenmemiştir. Ayrıca sonuçları incelediğinde, 5-FU'nun kopolimer yapısına bağlanması belirgin şekilde gözlenmiştir.



Şekil 4.67. 5-Florourasil (5-FU) ait  $^{19}\text{F}$ -NMR spektroskopisinde Flor atomunun işaretlenmiş yapısı.

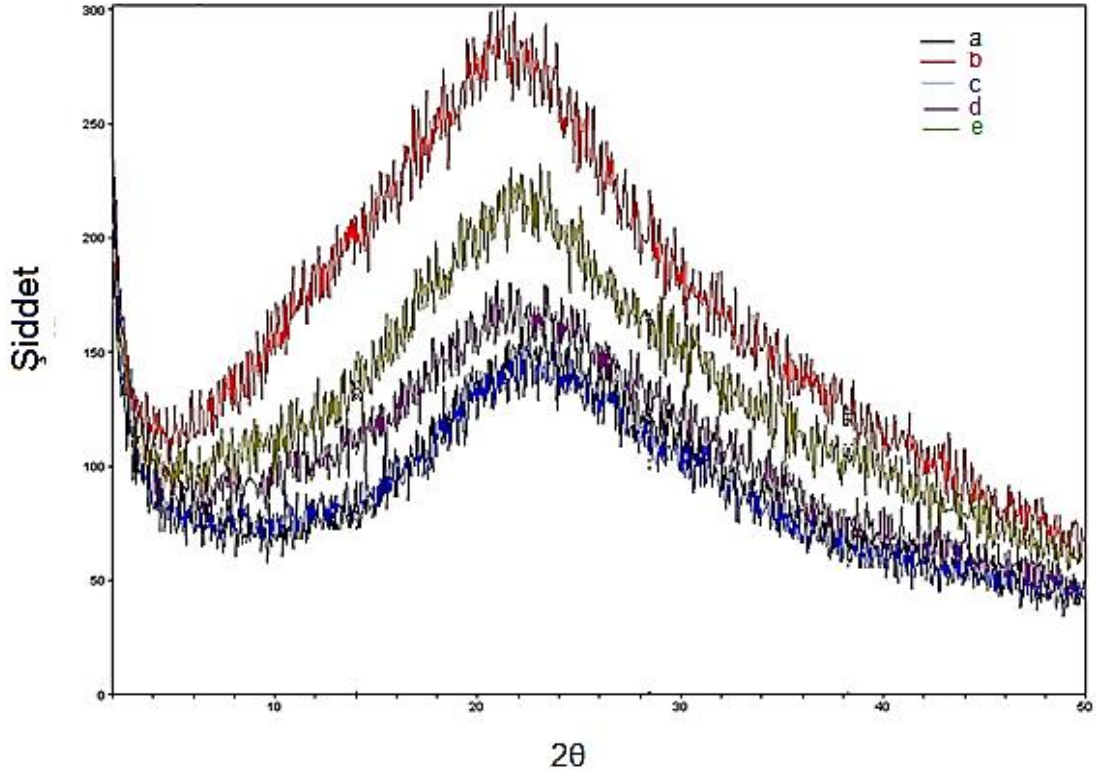


Şekil 4.68. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait <sup>19</sup>F-NMR'da flor atomunun işaretlenmiş hali.

NMR sonuçlarının kullanılması ile özellikle <sup>19</sup>F-NMR sonuçları nitroksit aracılığıyla kontrollü polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç bağlanma mekanizmasının şekil 4.66'de verildiği gibi MA birimine ait -C-O-C anhidrit grubunun açılarak 5-FU'ya amitleşme ile bağlanarak gösterilmiştir.

#### 4.2.6. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının X-Işını Difraksiyonu (XRD) Çalışmaları

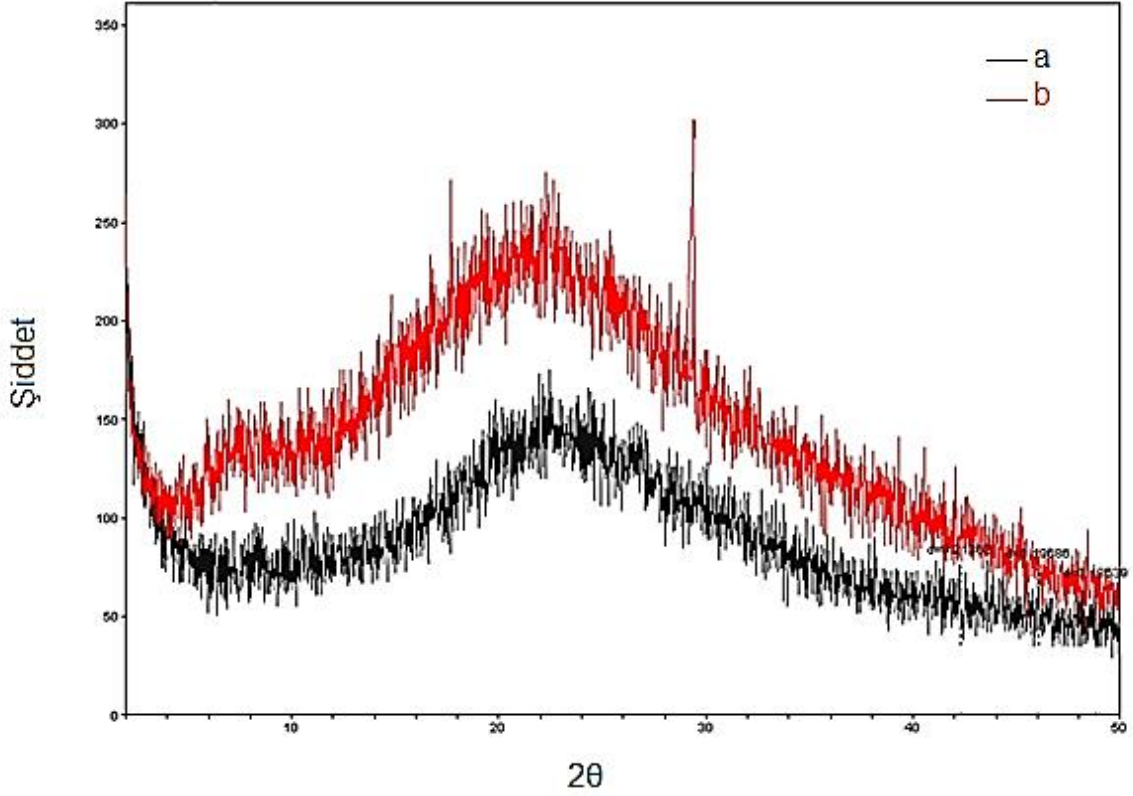
Nitroksit aracılığıyla ve *p*-dioksan ortamında sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin XRD difraktogramları Şekil 4.69 ve 4.70'de verilmiştir. Şekil 4.69'de poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerinin XRD deseninin incelendiğinde 20° civarındaki geniş bant kopolimerin yapısının amorf karakterde olduğunu göstermektedir



Şekil 4.69. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin XRD spektrumu.

Farklı kompozisyonda (monomer oranında) nitroksit aracılığıyla sentezlenen polimerlerin genel yapısı amorfa yakın olarak gözlenmiştir. Bu yapılarıdaki kristalinite değerleri genellikle düşük ve yapının amorf karakterde olduğu belirlenmiştir.

5-FU X-ışını difraksiyon spektrumunda şekil 4.69'da görüldüğü gibi karakteristik şiddetli pikler  $2\theta$  kırınım açısından  $17^\circ$ ,  $21^\circ$ ,  $26^\circ$  ve  $28^\circ$ 'de izlenmiştir. Şekil 4.70'de kopolimer-ilaç konjugasyonu sonucunda ilahtan kaynaklanan kristalinite artışı görülmektedir.

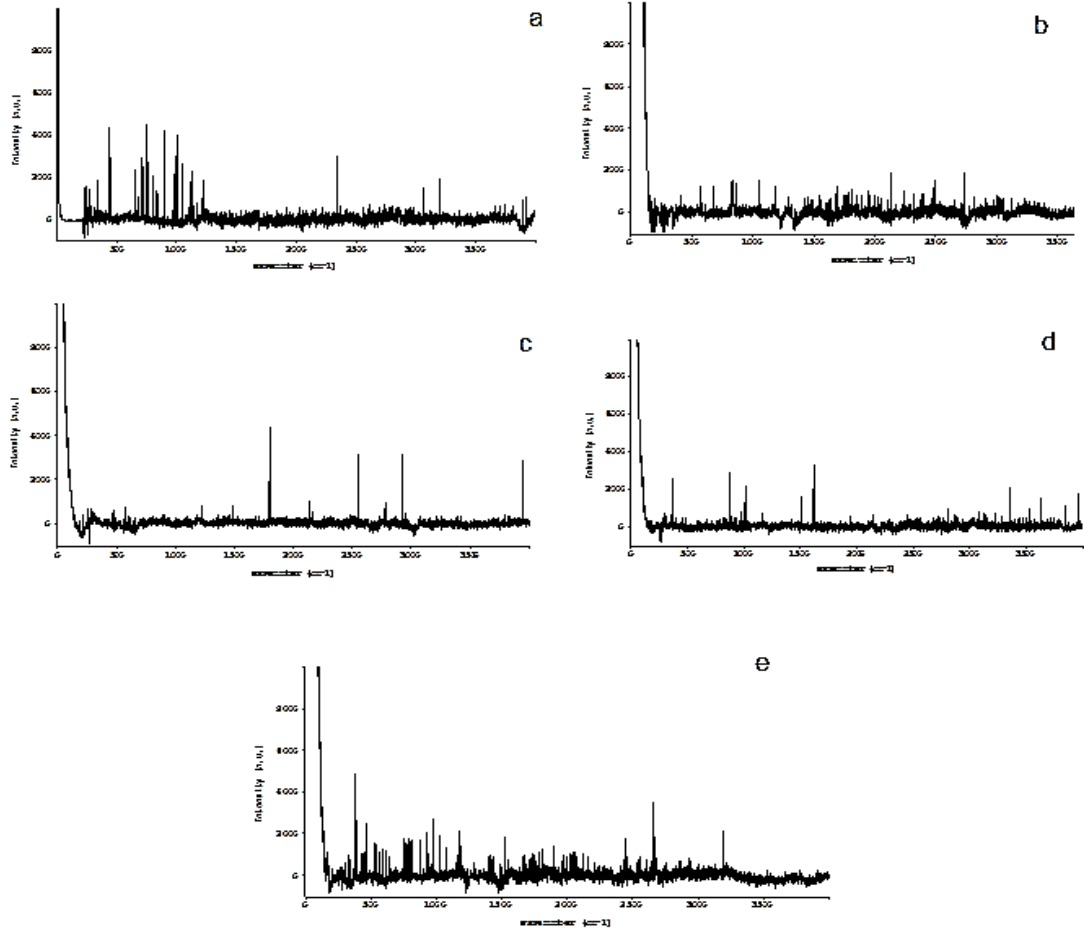


Şekil 4.70. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA-ard-NVP) (50:50) kopolimeri ve (b) kopolimer-ilaç konjugatına ait XRD spektrumu.

Nitroksit aracılığıyla kontrollü polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) XRD deseninde  $2\theta$  değeri  $29.04^\circ$ 'de hiç bir pik gözlenmemiş. Konjugasyon sonrasında  $29.04^\circ$ 'de 5-FU'dan gelen pik şiddetli olarak görülmüştür.

#### 4.2.7. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının HR-Raman Spektroskopisi Çalışmaları

NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerin yapısal karakterizasyonu ve 5-FU konjugatının Raman spektrumları Jobin-Yvon LabRam HR800 spektrometre kullanılarak elde edilmiştir. Nitroksit aracılığıyla sentezlenen Poli(MA-ard-NVP) kopolimerinin ve kopolimer-ilaç konjugasyonuna ait Raman spektrumları Şekil 4.71-4.72'de verilmiştir.



Şekil 4.71. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin HR-Raman spektrumu.

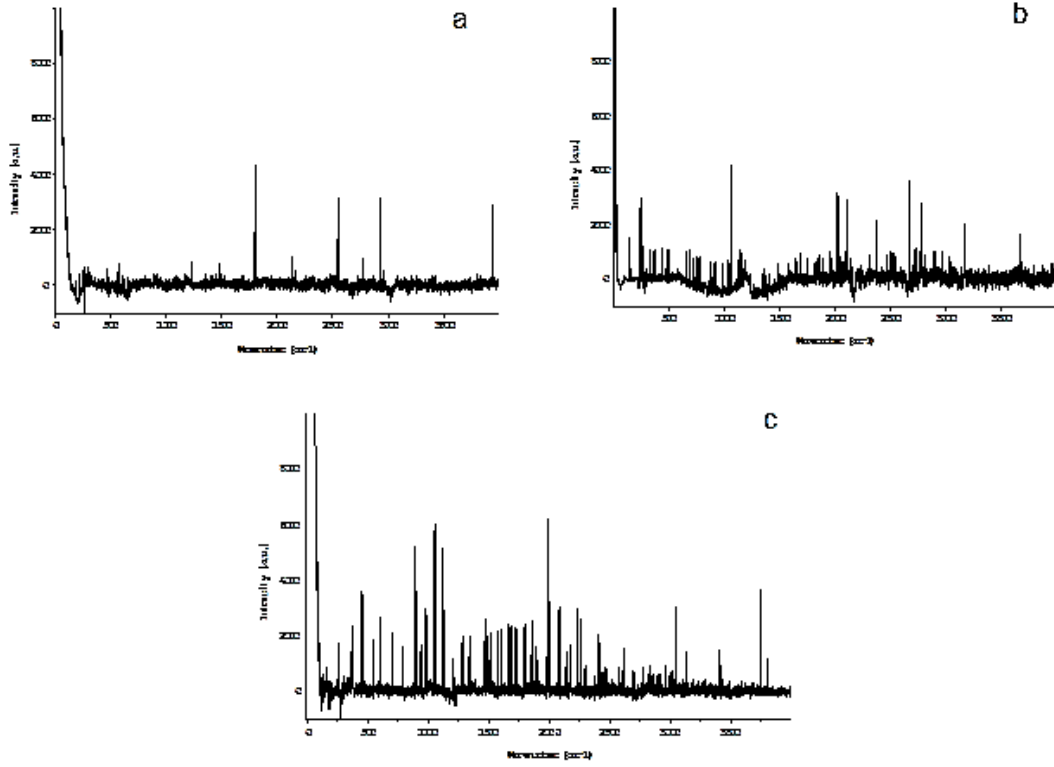
Farklı oranlarda NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin Raman spektrumuna baktığı zaman, -C-H gerilme bandı  $2934\text{cm}^{-1}$ 'de, N-H ait gerilme  $3050\text{cm}^{-1}$ 'de, MA ait -C=O gerilme bandı ve NVP ait -C=O bandı sırasıyla  $1847$  ve  $1730\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir.

Raman spektrumlarından gelen sonuçlara göre fonksiyonel gruplara sahip suda çözünür özellikleri anhidrit içeren kopolimerin oluşturdukları yapıların içerisinde spektroskopik en iyi sonuçlar yapının 50:50 besleme oranında sentezlenen kopolimerine aittir. Bu sonuçlar alt tabloda (Tablo 4.10) verildiği gibi ATR-FTIR'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerine ait HR-Raman ve ATR-FTIR spektrumlarının karşılaştırması.

Grubun adı	IR bantları (cm <sup>-1</sup> )	Raman bantları(cm <sup>-1</sup> )
-C-H gerilme	2934	2950
N-H ait gerilme bandı	3050	3120
MA ait -C=O gerilme bandı	1847	1850
NVP ait -C=O bandı	1730	1780
Eterik C-O-C gerilme bandı	1208	1320
C-C gerilme bandı	930	930-980
-CH <sub>2</sub> gerilme bandı	1370	1270
TEMPO'nun CH <sub>3</sub> gerilme bandı	2969	2969
TEMPO'nun CH <sub>3</sub> bükülme bandı	1373	1373

Trietilamin (TEA) katalizörü varlığında kimyasal olarak modifiye edilerek polimer ilaç konjugatları hazırlanmıştır. Bu mekanizmaya göre 5-Florourasile ait bağ 939-1050 cm<sup>-1</sup> 'de, C-O eğilme bandına ait pikler ATR-FTIR da 1291 cm<sup>-1</sup> 'de gözlenirken, Raman spektroskopisinde 1305 cm<sup>-1</sup>'de izlenmiştir. C-N bandı 1421 cm<sup>-1</sup>'de, ve C=O bandı ATR-FTIR da 1730 cm<sup>-1</sup>'de, ama Raman spektroskopisinde 1790 cm<sup>-1</sup> 'de ve N-H bantları 3050 cm<sup>-1</sup>'de görünmüştür.



Şekil 4.72. NMP yöntemi ile sentezlenen (a) poli(MA-ard-NVP) (50:50) kopolimeri, (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait alınan HR-Raman spektrumu.

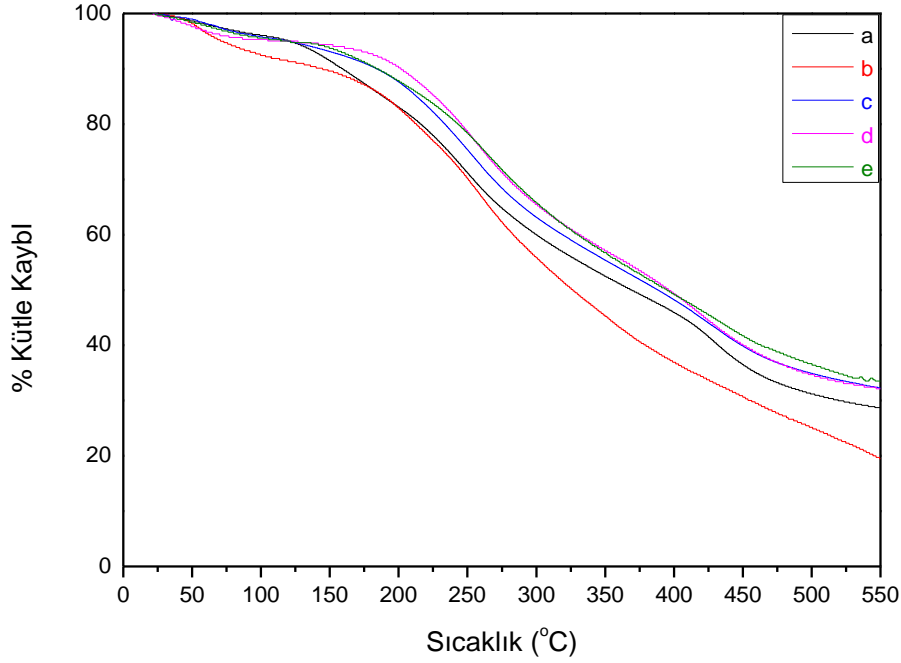
Konjugasyondan sonra kopolimer ve 5-FU ya ait olmayan ve amitleşme C-CONHR reaksiyonu sonucu oluşan yeni pikler bulunmuştur.  $1421\text{cm}^{-1}$ 'de C-N kuvvetli bükülme ve C-N ait  $2359\text{cm}^{-1}$ 'de ise orta şiddetli pikler ATR-FTIR'da bulunmuştur. ATR-FTIR'den elde edilen sonuçları Raman spektroskopisi ile karşılaştırdığımız zaman  $1421\text{cm}^{-1}$ 'de zayıf şiddette ki pik C-N bükülme piklerine ve C-N ait pik ise  $2470\text{cm}^{-1}$ 'de orta şiddette bulunmuştur.

Ayrıca polimer-ilaç yapısında  $939\text{cm}^{-1}$ 'de ATR-FTIR'dan bulunan 5-FU'a ait pik aynı zamanda Raman spektroskopisinde  $970\text{cm}^{-1}$ 'de izlenmiştir. C-F bandı ise  $1360\text{cm}^{-1}$ 'de bulunmuştur. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatından gelen TEMPO'ya ait  $-\text{CH}_3$  grubunun gerilme bantları  $2969\text{cm}^{-1}$ 'de ve  $1373\text{cm}^{-1}$ 'de ise TEMPO'dan gelen  $-\text{CH}_3$  grubunun bükülme bantlarıdır (Şekil 4.72).



#### **4.2.8. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Çalışmaları**

NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerleri, 5-FU ve konjugatına ait termal karakterizasyonu amaçlı DSC ve TGA termogramları alınmıştır (Şekil 4.73-4.76). Farklı sıcaklık değerlerinde %kütle kaybı Tablo 4.11'de verilmektedir. Farklı kompozisyona sahip kopolimerlerin TGA analizleri incelenecek olursa; birinci bozunma basamağı, yan grupların, su veya çözücü gibi uçucu grupların, doymuş ve doymamış bantların eliminasyonundan kaynaklı olduğu öngörülebilir. TGA termogramı incelediğinde, NMP ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) için asıl ağırlık kaybı 225-400°C arasında olmuştur. 400°C ile 500°C arasında daha düşük bir oranda ağırlık kaybı devam etmiştir. Yan grupların düşük sıcaklıktaki bozunmasını yüksek sıcaklıklarda polimerin ana zincirinin bozunması takip etmektedir. Farklı beslenme oranlarında Nitroksit vasıtasıyla sentezlenen kopolimerlerin termogram sonuçlarına göre 50:50 oranındaki sentezlenen kopolimerin teorik olarak beklenildiği gibi, diğer beslenme oranlarında sentezlenen kopolimerlerin termogramlarının arasında çıkmaktadır. Bu sonuç 50:50 oranındaki nitroksit aracılığıyla sentezlenen kopolimerin en uyumlu özelliği göstermektedir.



Şekil 4.73. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin TGA termogramı.

Genel olarak, örneklerde 90°C ve 150-300°C sıcaklık aralıklarındaki kütle kaybı keskin bir durum arzederken diğer sıcaklıklarda pik değişimleri keskin olmayıp yumuşak bir geçiş göstermektedir. Diğer bir deyişle, düşük sıcaklıklarda kütle kaybı örneklerdeki nem kaybını veya serbest suyun çıkışını temsil etmesine karşın, keskin piklerin görüldüğü yerler dışındaki sıcaklık değişimlerine karşı gelen bölgelerde önemli değişim gözlenmemektedir.

Nitekim termal analiz için gönderilen örneğin spektrumuna bakıldığında maleik anhidrit halkasının hidroliz olduğu görülmektedir. Birinci bozunma basamağı %4.2'luk bir kütle kaybın sebep olmuştur [192].

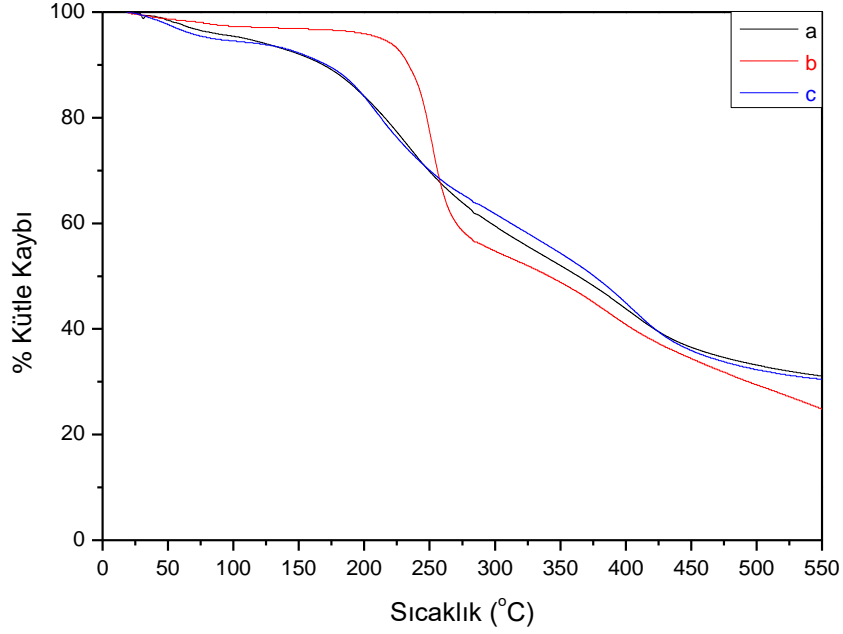
Maleik anhidritin kopolimerlerinde bu sıcaklık aralığında başka bir bozunmayaraştırılmamıştır. 225-400°C'de ikinci bozunma basamağında büyük kütle kaybına gözlenmiştir. Tablo 4.11'de NMP ile sentezlenen kopolimerler ve kopolimer-ilaç konjugatının sıcaklığa göre kütle kaybı yüzdesi verilmiştir. Analiz yapılan bütün kopolimerlerde sıcaklık arttıkça yüzde kütle kaybının arttığı gözlenmiştir.

Tablo 4.11. MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerinin termoanalitik değerleri.

Örnekler	Sıcaklık (°C) – Kütle kaybı (%)				
	100	300	400	500	500
SH1T	4.2	39.6	51.4	65.9	73.2
SH2T	7.1	42.2	55.6	73.0	72.6
SH3T	4.3	35.5	47.9	63.6	70.5
SH4T	3.6	36.7	48.5	64.7	70.2
SH5T	3.7	34.9	47.8	64.9	71.3

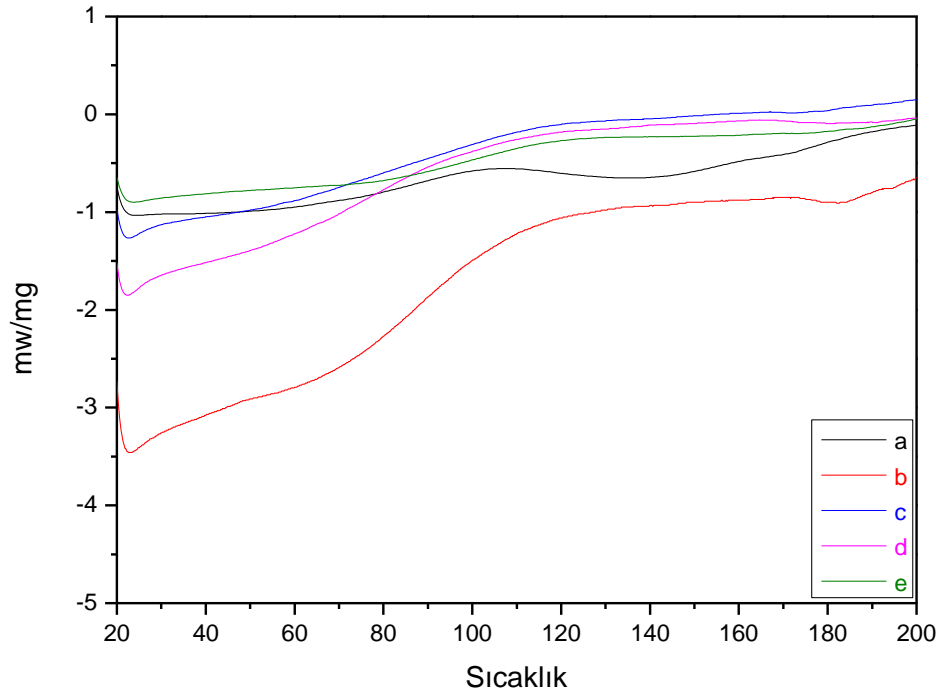
Farklı oranlarda sentezlenen kopolimerlerin termogravimetrik eğrilerine (TGA) göre ardışık kopolimerlerin ve 5-FU içerikli kopolimerler-ilaç konjugatının ısısal bozunurluk parametreleri karşılaştırıldığında 5-FU içerikli kopolimerler-ilaç konjugatının kompleks oluşumu nedeniyle daha üstün performanslı ısısal özelliklere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

İlaç konjugasyonu ile (Şekil 4.74) gözlenen yüksek termal stabilite, NVP birimi ve MA birimi arasındaki amitleşme reaksiyonunu ile açıklanabilir. Bu gerçekleşen amitleşme reaksiyon NVP biriminde bulunan amin grubu ve MA birimindeki karboksilik gurubu ile açıklana bilmektedir. Bunun yanı sıra, poli(MA-ard-NVP)-5-FU polimer-ilaç konjugatına ait TGA spektrumunu incelediğimiz zaman büyük bir değişiklik görülmemektedir.



Şekil 4.74. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP)-5-FU (a) poli(MA-ard-NVP) (50:50) (b) 5-FU, (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait TGA termogramı.

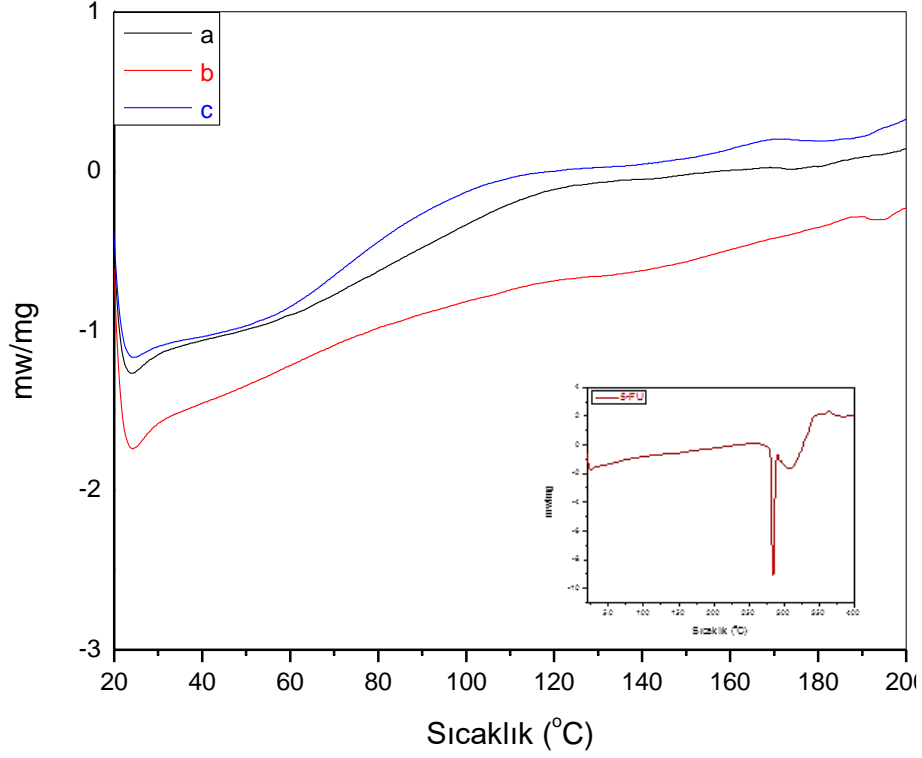
DSC termogramları değerlendirildiğinde; nitroksit aracılığıyla sentezlenen poli(MA-ard-NVP)'nin camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) 119°C ve bozunma sıcaklığı ( $T_d$ ) 215°C'dir. Tüm örneklerde gözlenen ekzotermik pikler, örneklerdeki polimer zincirinin üzerinde bulunan grupların yanarak bünyelerden uzaklaştığını göstermektedir. Bunun yanı sıra, poli(MA-ard-NVP)-5-FU polimer-ilaç konjugatına ait DSC spektrumunu incelediğimiz zaman büyük bir değişiklik görülmemektedir.



Şekil 4.75. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP), MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin DSC termogramı.

NVP miktarı monomer beslenme oranında arttığı zaman  $T_g$ 'de bir artış gözlenmiştir. Sentezlenen kopolimerlerin arasında  $T_g$  için gözlenen ilişki MA'deki karbonil ve NVP'deki amit grupları moleküller arası ve içi ve H-bağı bantları ile açıklanabilir. Maleik anhidrit veya kopolimerleri suyla hidroliz olup maleik asite kolaylıkla dönüşebilmektedirler. Havadaki nemden dahi etkilenip hidroliz olmaları mümkündür [193].

Normalde 110-120°C arasında gözlenmesi beklenen pikler kopolimer-ilaç arasındaki konjugasyondan sonra yaklaşık 128 °C kaymıştır. Şekil 4.76'da gözlemlendiği gibi 5-FU tamamen kristal yapıya sahip olduğu için konjugasyondan sonra camsı geçiş sıcaklığının artışına neden olmuştur.

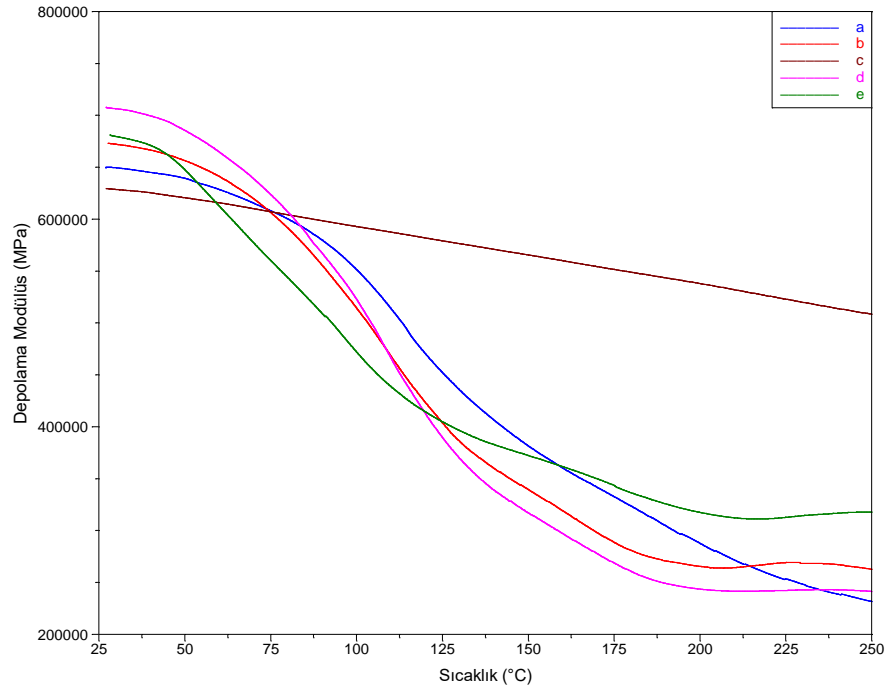


Şekil 4.76. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP)-5-FU (a) poli(MA-ard-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait DSC termogramı.

NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının DSC eğrilerinde gördüğü gibi, 5-FU içeren yapının kopolimerie göre daha üstün performanslı ısıl özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir. DSC eğrisine göre 5-FU içeren poli(MA-ard-NVP) kopolimerinde camsı geçiş sıcaklığı 131°C'dir.

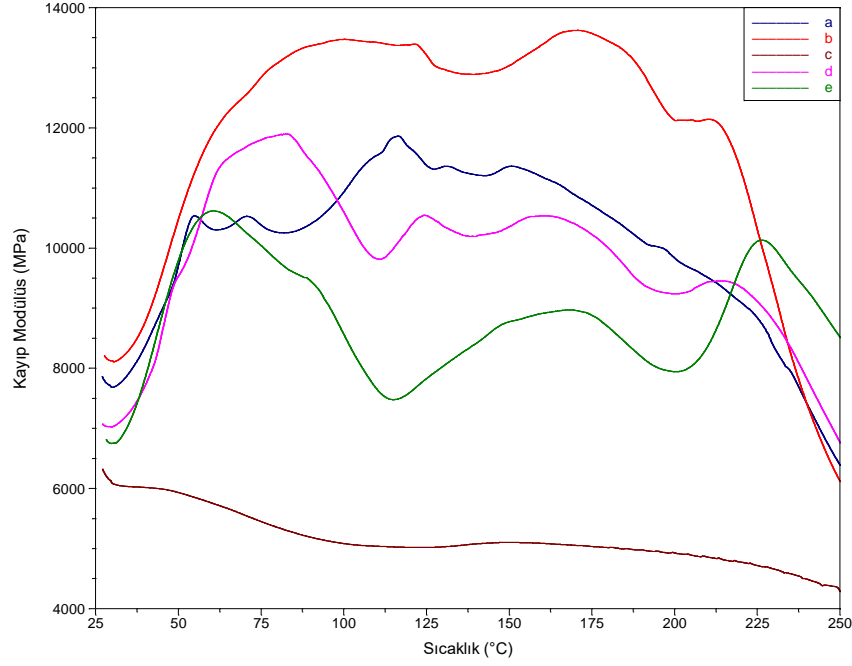
#### 4.2.9. NMP Yöntemi ile Sentezlenen Kopolimerler ve Kopolimer-İlaç Konjugatının Dinamik Mekanik Analiz (DMA) Çalışmaları

NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP)'nin dinamik mekanik özellikleri (Depolama modülüsü S-M), Kayıp modülüsü (L-M) ve Tan- $\delta$  şekil 4.77-4.82'de verilmiştir. DMA yöntemi ile kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatlarının sabit frekans sıcaklığından bağılı olarak viskoelastik davranışları incelenmiştir. DMA analizlerinde, camsı geçiş sıcaklığının önce gözlenen  $T_g$  altı geçişler polimerin üzerinde takılı olarak fonksiyonel grupların hareketliliğinden kaynaklıdır [112].



Şekil 4.77. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği SM-T eğrileri.

Şekil 4.79 'dakopolimere ait olan Tan- $\delta$  eğrisi incelendiği zaman,  $T_g$  geçişine ait pikten önce 65 °C'de gözlenen geçişler, kopolimerin üzerinde bulunan H-bağlı dönme, öteleme vb, gibi geçişlere ait olan viskoelastik davranışları göstermektedir.



Şekil 4.78. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği LM-T eğrileri.

NMP ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)' in DMA ile elde edilen  $T_g$  değerleri DSC ile elde edilenlerle karşılaştırıldığında, DMA ile elde edilen  $T_g$  değerlerinin frekans faktörüne bağlı olarak, DSC ile elde edilen  $T_g$  değerlerinden birkaç derece daha farklı olduğu görülmüştür.

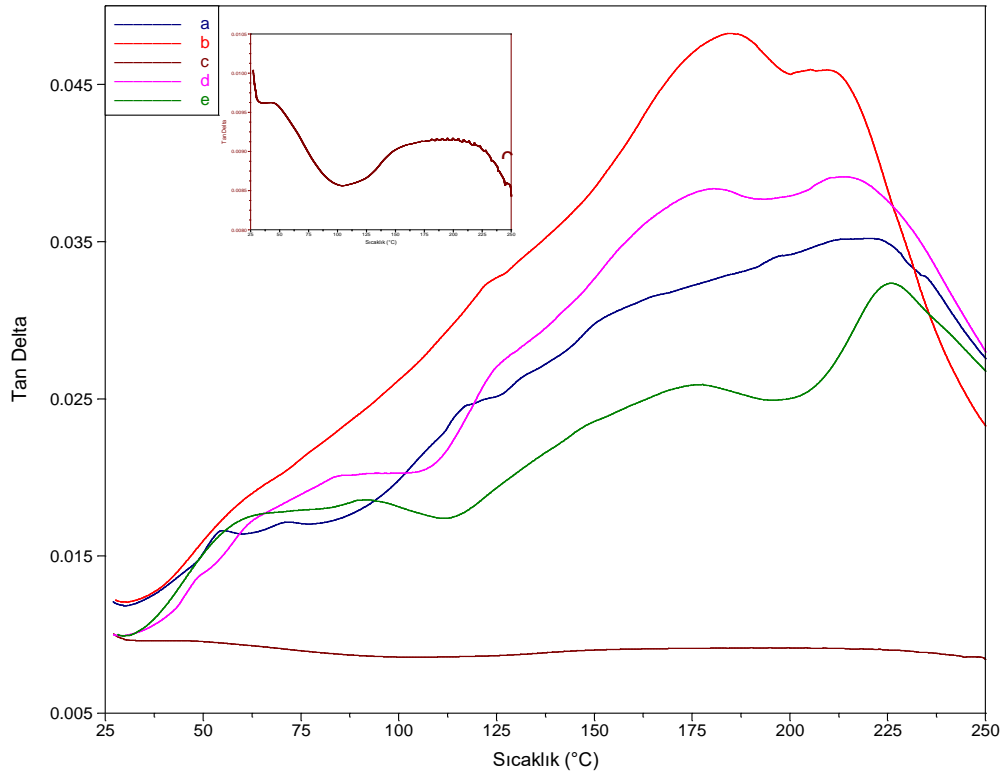
Tablo 4.12. NMP yöntemi ile farklı oranlarda sentezlenen ardışık kopolimerlerin ısıl davranışları.

Kopolimerler	DSC analizi	DMA analizi
	$T_g$ (°C)	$T_g$ (°C)
SH1T	119	116
SH2T	121	122
SH3T	118	107
SH4T	120	115
SH5T	124	121



DMA analiz ile bulunan  $T_g$  sıcaklığı en hassas yöntem olarak ifade edilmektedir. NMP ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) camsı geçiş sıcaklığı yaklaşık 110°C olarak bulunmuştur (Şekil 4.80).

DSC analiz sonuçlarına göre, NMP yöntemi ile sentezlenen ardışık kopolimerlerin camsı geçiş ( $T_g$ ) davranışları, CTC yönteminden elde edilen kopolimerlere göre bir kaç derece farklı bulunmuştur. Her iki yöntemde ilaçla modifiye edilmiş kopolimerlerin ısıl bozunurluk özellikleri (TGA-DSC analizleri) ardışık kopolimerlere göre daha yüksek sıcaklıklarda gözlemlenmiştir.

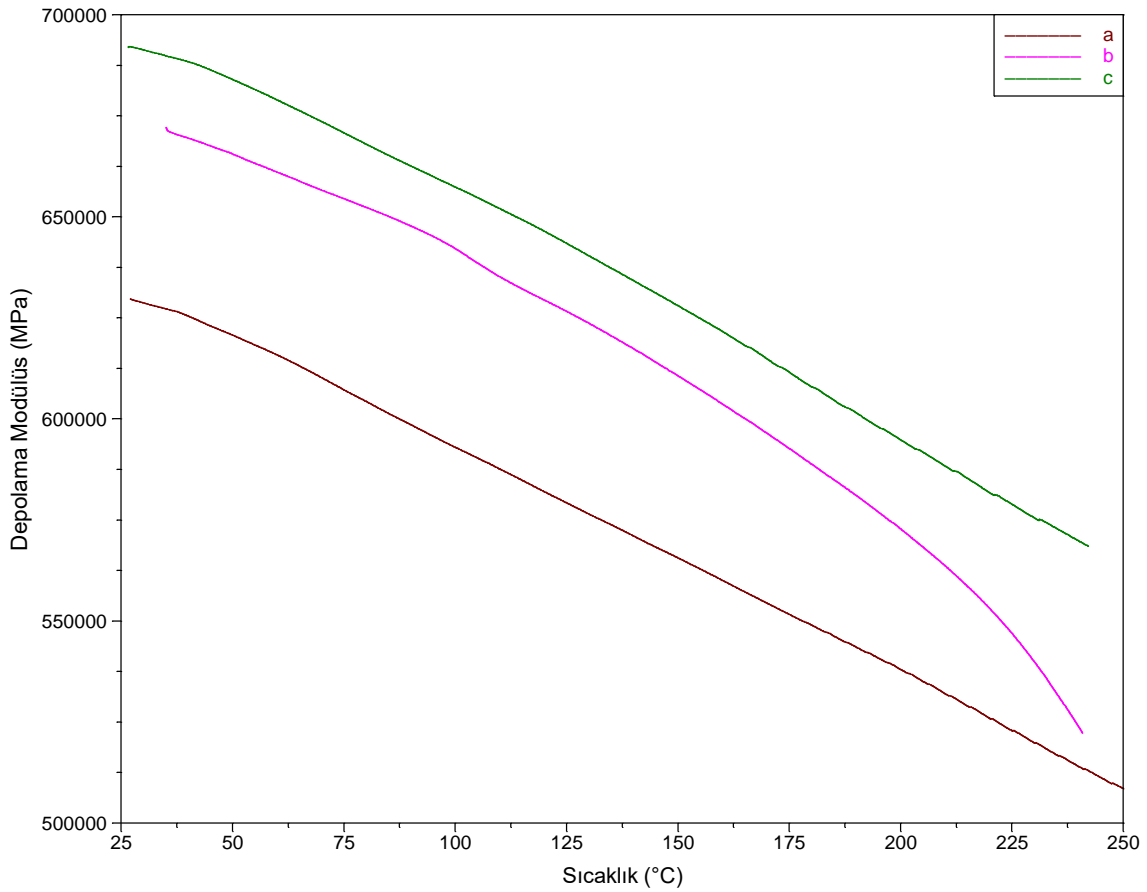


Şekil 4.79. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)MA:NVP (a) 80:20, (b) 60:40, (c) 50:50, (d) 40:60, (e) 20:80 monomer besleme oranında kopolimerlerinin toplu olarak verildiği Tan  $\delta$ -T Eğrileri.

Yük transfer kompleks radikal (CTC) kopolimerizasyonu kullanılarak sentezlenen kopolimerler ile kontrollü polimerizasyon yöntemi NMP ile sentezlenen kopolimerleri camsı geçiş sıcaklığı karşılaştırıldığında (CTC  $T_g$ : 112°C; NMP  $T_g$ : 107 °C) kontrollü

polimerizasyon yöntemi NMP ile sentezlenen kopolimerin mol kütlelerinin daha düşük olduğu ve mol kütlelerinin aynı sentez koşulları altında kontrol edilebilir gerçeği göz önünde bulundurulabilir.

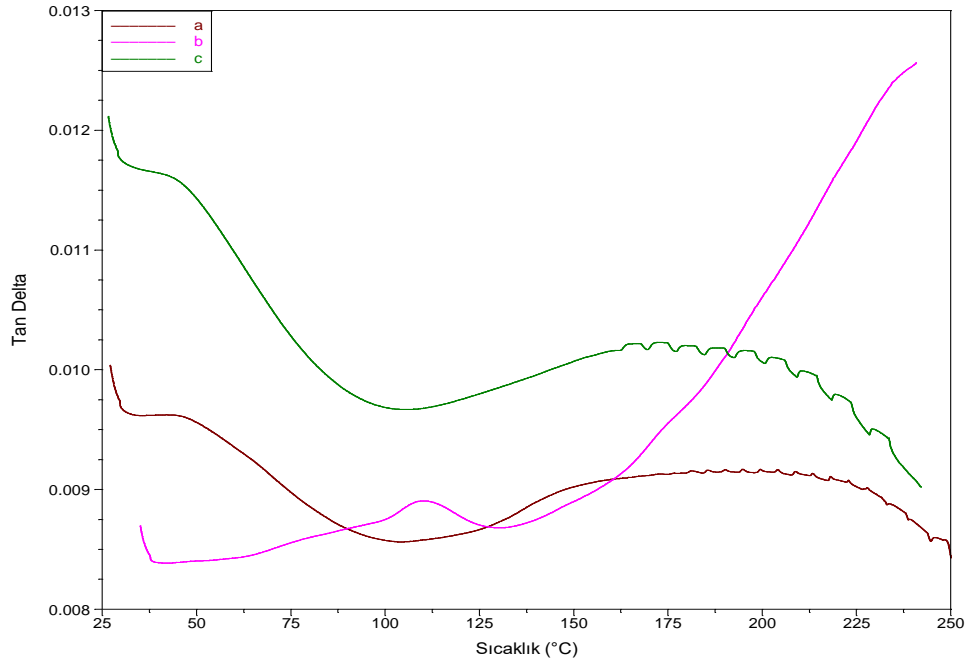
Şekil 4.81-4.83'de poli(MA-*ard*-NVP)-5FU konjugatına ait depolama modülüsü (SM), kayıp modülüsü (LM) ve Tan  $\delta$ -T eğrileri görülmektedir. Konjugasyon ile kopolimer örneklerin sertliğinin arttığını, elastikiyetlerinin azaldığını göstermektedir. Ayrıca, camsı halden elastik hale geçiş sıcaklık aralığının konjugasyonu sonucunda daha yüksek sıcaklıklara kaydığı görülmektedir. Konjugasyon sonucu kopolimer-ilaç konjugatının camsı geçiş sıcaklığı  $\sim 131^{\circ}\text{C}$  olarak bulunmuştur.



Şekil 4.80. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)-5-FU (a) poli(MA-*ard*-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer- ilaç konjugatına ait SM-T eğrileri.

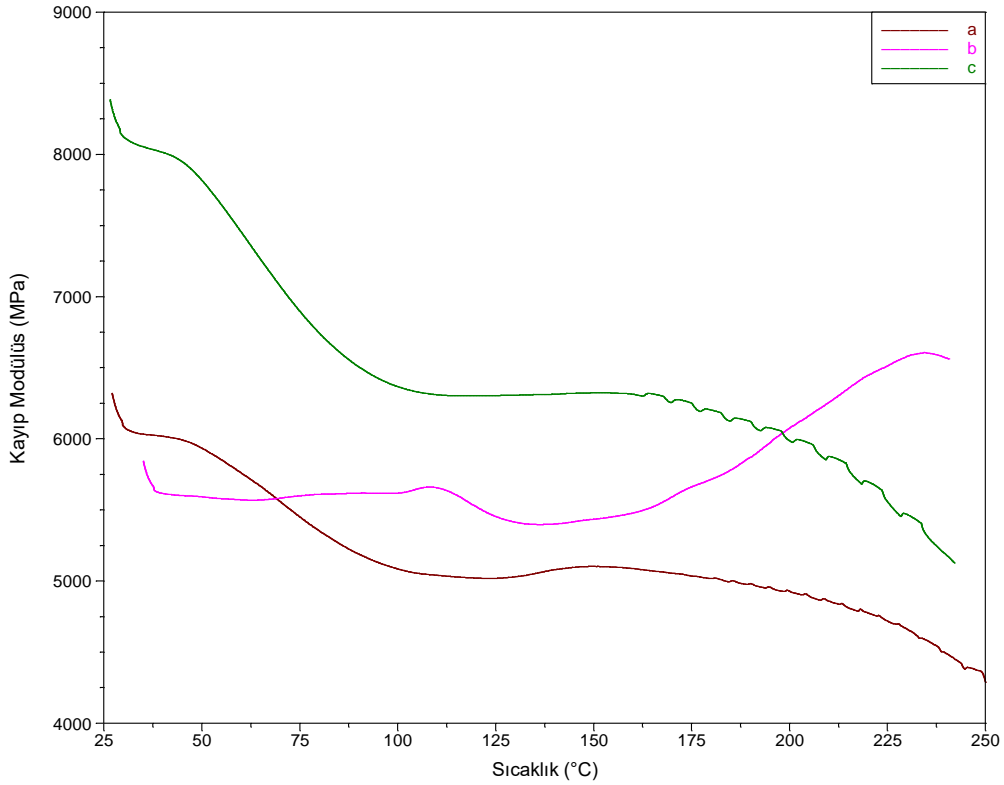
Şekil 4.80 'da göstermiş olduğu gibi, 5-FU molekülünün yüksek SM değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Küçük mol kütlesi ve kristalin yapısı nedeniyle SM-T eğrisi üzerinden geçişleri gözlenmemektedir.

Genel olarak konjugat molekülü, kopolimer ile benzer bir SM-T eğrisi vermektedir. Camsı geçiş bölgesinde 5-FU ve kopolimerin SM eğrisinde hızlı düşüş gözlenmiştir. Bu düşüşe rağmen konjugat örneğinde ilaca benzer şekilde bozunma sıcaklığı daha geniştir ve konjugat yapısı ile birlikte yapıya daha fazla organik moleküllerin katılmasını sağlamışlar.



Şekil 4.81. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP)-5-FU (a) poli(MA-ard-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait Tan  $\delta$ -T eğrileri.

Tan  $\delta$  eğrisine dikkat edildiği zaman  $T_g$  geçişinde polimer üzerinde bulunan H-bağı ve fonksiyonel grupları nedeniyle geniş bir bant gözlenmiştir. Ama kopolimer konjugatında aromatik 5-FU molekül dönmelerini engellemesi olarak bu pik gözlenmemiştir (Şekil 4.82).



Şekil 4.82. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP)- 5-FU (a) poli(MA-*ard*-NVP)(50:50), (b) 5-FU ve (c) kopolimer-ilaç konjugatına ait LM-T eğrileri.

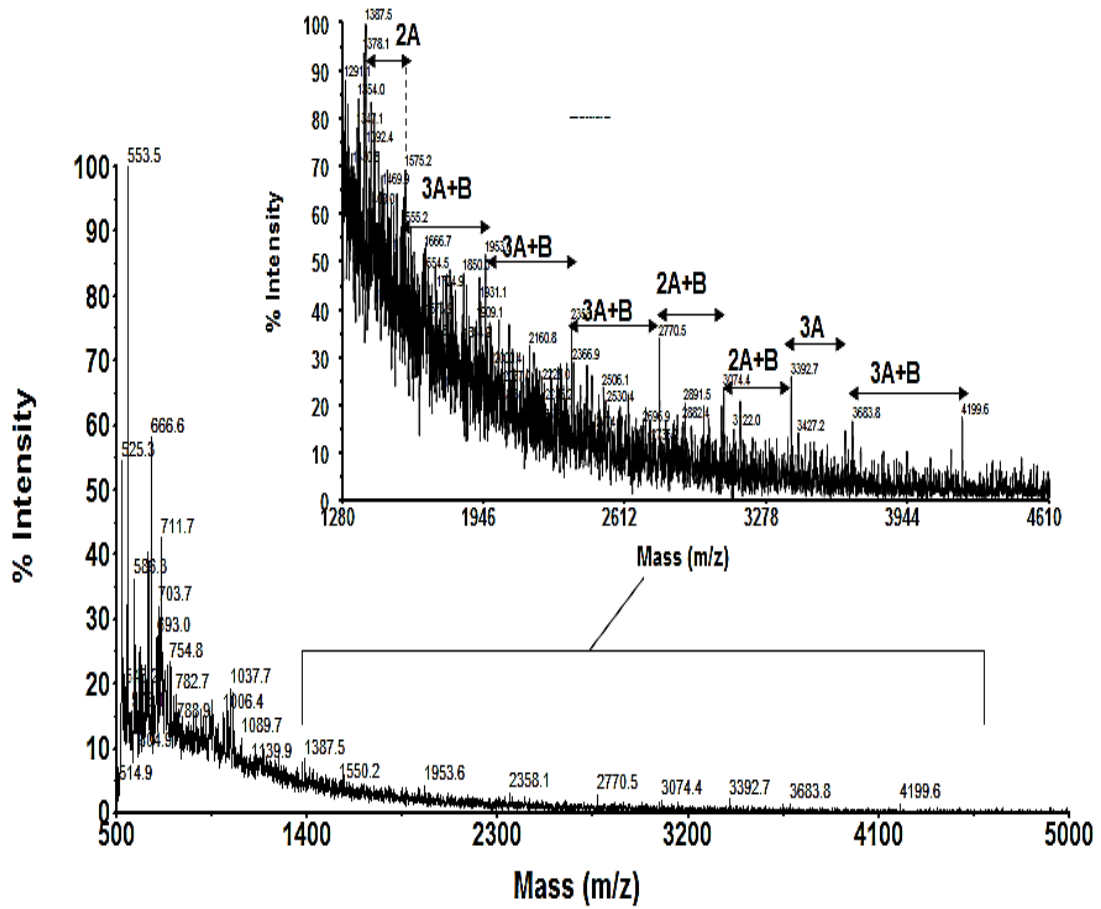
Konjugat molekülünün  $T_g$  değeri ( $131^\circ\text{C}$ ) kopolimerin camsı geçiş sıcaklığından ( $110^\circ\text{C}$ ) daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Kopolimer-ilaç konjugatından sonra oluşan yeni amitleşme piki serbestliğin azalmasına neden olmuştur. Bu yüzden camsı geçiş sıcaklığı daha yüksek sıcaklıklara kaymıştır.

#### 4.2.10. NMP yöntemi ile Sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) Kopolimerin Matris-Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaştırılmalı-Uçuş zamanlı-Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ile Mol Kütle Tayini

Sentezlenen kopolimerin MALDI-TOFF-MS kütle spektrometresi analizlerinin sonucu şekil 4-83'de verilmiştir. Polimerlerin MALDI-kütle spektrumlarında gözlenen piklerin  $m/z$  değerlerinden polimerlerin tekrarlanan grupları izlenmiş ve sayıca-ortalama mol kütle ( $M_n$ ), ağırlıkça-ortalama mol kütle ( $M_w$ ), z-ortalama mol kütle ( $M_z$ ) ve PDI değeri belirlenmiştir.

NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerin bileşenlerinden tekrarlanan grupları referans olarak MALDI-TOFF-MS spektrumu kaydedilmiş ve Şekil 4.84'te verilmiştir.

Spektrumda tekrarlanan monomerik NVP grubunun molekül kütlesi (111.14 g/mol) ile MA (98.06 g/mol) kütlesi gözlenmiştir. iki farklı tekrarlanan monomerik grup içeren poli(MA-*ard*-NVP) zincir yapılarında farklı sayıda MA veya NVP tekrarlanan grupları içermesi gözlenmiştir. NMP, kontrollü polimerizasyon tekniğini kullanarak farklı kompozisyonlara dar mol kütlesi dağılımına sahip kopolimerler elde edilmiştir.



Şekil 4.83. NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) (50:50) kopolimerine ait MALDI-TOF-MS spektroskopisi.

Kontrollü polimerizasyon tekniği ve NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerin MALDI-kütle spetrumlarından elde edilen önemli sonuçlardan biri de sentezlenen kopolimerlerin  $M_n$ ,  $M_w$ ,  $M_z$  ve PDI değerlerinin belirlenmesidir. Bu sonuçlara göre kontrollü polimerizasyon tekniği ile sentezlenen polimerlerin  $M_n$ ,  $M_w$ ,  $M_z$  ve PDI değerleri, serbest radikalik polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan

kopolimerlere kıyasla düşük mol kütlesi ve dar mol kütlesi dağılımları gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre  $M_n=1942.27$ ,  $M_w=2148.76$ ,  $M_z=2408.44$  ve  $PDI=1.11$  olarak bulunmuştur.

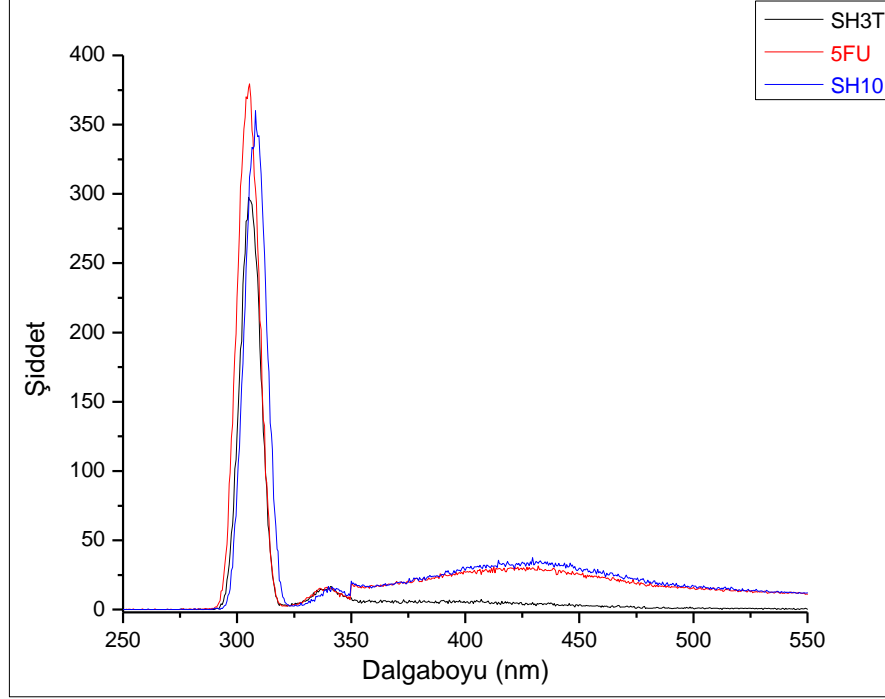
NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin kaydedilen MALDI-TOF-MS spektrumlarında izlenen pozitif iyon pikleri arasındaki kütle farklarının, kopolimerleri oluşturan MA ve NVP monomerik tekrarlanan grupların molekül kütleleri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre NMP yöntemi poli(MA-*ard*-NVP) ardışık kopolimerlerinin sentezi için başarılı bir şekilde yapılmış olduğu belirlenmiştir.

Elde edilmiş MALDI-TOF-MS sonuçlarına göre, NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin mol kütlesi ve dağılımı, CTC yöntemine göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. NMP sentezinden elde edilen kopolimerlerde, PDI değeri 1.1 olarak oldukça düşük bulunmuş ve dolayısıyla kontrollü olarak mol kütlelerinin denetlendiğini göstermiştir [187, 194].

#### **4.2.11. Floresans Spektroskopisi Çalışmaları**

Bağlanan ilacın analizi için standart ilaç etken maddesinden (5-FU) belirli derişimlerde çözeltide hazırlanmıştır ve bu çözelti Şekil 4.83'de verilen floresans emisyon spektrumları kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. İlaç konjugatını araştırmak için 2 mL fosfat tampon kullanılmıştır.

Ölçümler, uyarılma (excitation) dalgaboyu 302 nm ve yayınma (emission) dalgaboyu 374 nm'de yapılmıştır. Kopolimer-ilaç konjugatının ölçüm çalışmaları için tekrar sayısı  $n=3$ 'tür. Bu spektrumda 431 nm'deki pik yüksekliği yayınma değeri olarak yorumlanmış ve elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4.85'de verilmiştir.



Şekil 4.83. NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer-ilaç konjugatına ait Floresans spektrumu.

SH3T hiç floresans özelliğine sahip bir grup olmadığından dolayı 431nm'de pik gözlenmemiştir. Ancak kopolimer-ilaç konjugatında, 5-FU'dan gelen flor gurubundan dolayı 431 nm'de belirgin bir şekilde pik gözlenmiştir [156]. Bu sonuca göre NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer'de 5-FU'nun bağlanmış olduğunu ispatlamak mümkün olmuştur.

#### 4.3. Polimer ve Polimer-İlaç dsNA Yöntemi ile Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Canlı bir doku veya organdan alınan küçük bir parçanın *in vitro* alanda büyütülmesi ve çoğaltılmasına hücre kültürü denilir. Hücre kültürü, deney hayvanı kullanımını en aza indirmek için başvurulabilecek yöntemlerden biridir. Bu çalışma, deney hayvanları ile yapılan çalışmalara nazaran çok daha kolay uygulanabilir [159]. Aşı, monoklonal antikor, çeşitli enzimler ve hormonların üretimi, DNA ve RNA replikasyonu araştırması, protein sentezi, hücre içi aktivite ölçümü, çeşitli ilaçların hücre siklusuna etkisi, hormonal reseptör komplekslerinin davranışları, enerji metabolizmasının araştırılması, sinyal iletim mekanizması ve

hücre haberleşmesi, enfeksiyon araştırmaları, hücrenin beslenme özellikleri, kimyasal transformasyon, viral transformasyon, embriyonik araştırmalar, özel ürünlerin sentezlenip adezyon, sitogenetik analiz, hücre popülasyon kinetiği, genetik manipülasyon ve immortalizasyon gibi çeşitli amaçlarla hücre ve doku kültürü yapılmaktadır [159].

Hücre kültürünün amacı, bir grup hücreyi yaşatmak, ileri çalışmalar için çoğaltmak, ihtiyaç halinde tekrar kullanmak amacıyla dondurarak saklamaktır. Hücrelerin çoğaltılmasıyla, uygulanabilecek deney sayısını çoğaltmak; deney yapılan pasajdaki hücrelerin dondurulmasıyla da ileride deneyin aynı pasajdaki hücrelerle tekrarlanabilmesine imkân verir. Hücrelerin canlılığı, her merhaledeki en önemli husustur. Bunun dışında steril çalışma şartları oluşturulabilirse ancak hücre kültüründe başarı sağlanabilir. Bu çalışmada çocuk ve erken yaş yaygın kanseri osteosarkoma dokularından kültür edilen Saos-2 hücre hattı kullanılarak apoptoz üzerine etkisi araştırılmıştır.

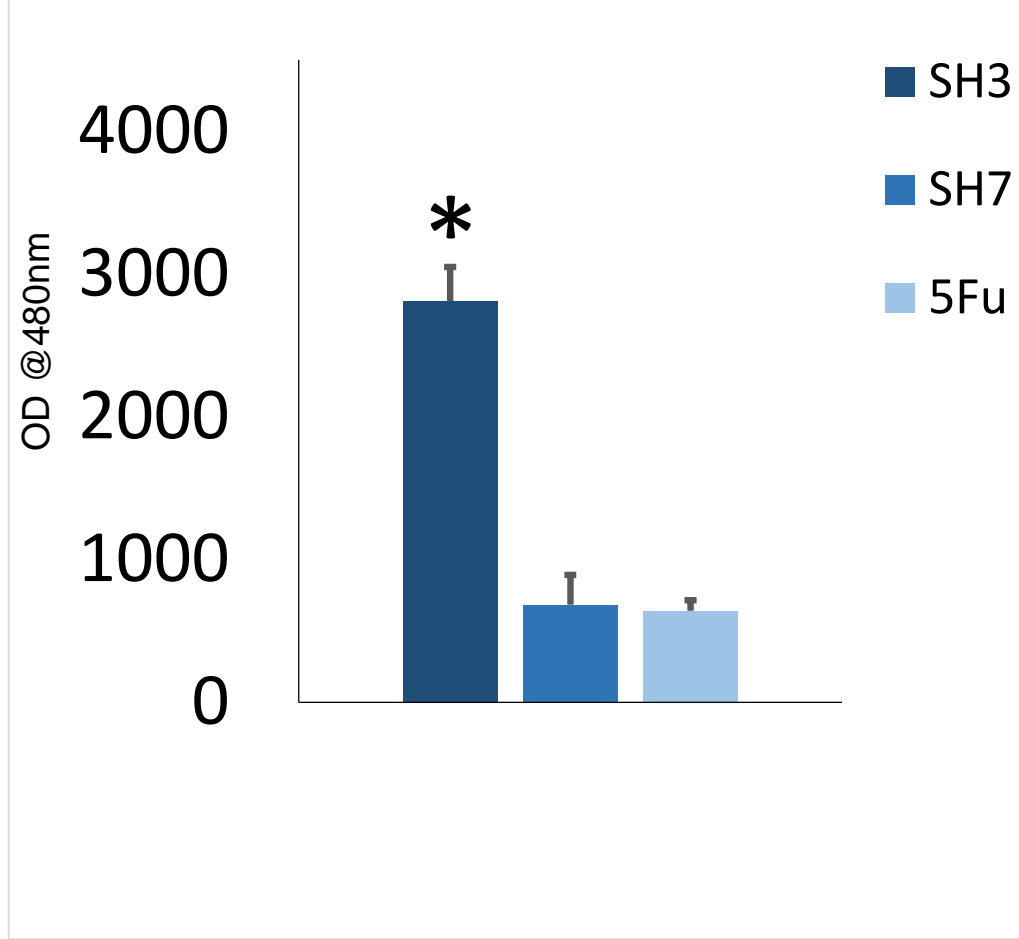
Yapılan analizler ve okumaların paralelinde elde edilen sonuçlar, polimer–dsDNA ve polimer/ilaç-dsDNA hücreleri arasındaki istatistiksel sonuçlar ve grafikleri elde edilmiştir. Bu grafiklere bakıldığı zaman hücrelerin kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatı ile etkileşime girip ve bu grupların aralarında anlamlı farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir.

CTC ve NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının arasında farklılıklar değişken ve anlamlıdır. CTC ve NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) kopolimeri çalışılan her derişimde birbirine yakın toksite göstermişler. İstatistiksel rakamları ayrıntılı incelediğimizde canlı kalan hücre sayılarına bakarak, kopolimerlerin sayısı kopolimer-ilaç konjugat sayısından daha fazla olduğu gözlenmektedir [195].

Kopolimerlerin yapısına ilaç katıldığından hüclerinin sayısında düşüş gözlenmiştir [115]. Kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatını karşılaştırıldığında (7. gün) hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark görülmemektedir ve sentezlenen bu maddeler hücrelerin ölümüne yol açmaktadır. şekil 4.86 ve şekil 4.87'de CTC ve NMP yöntemi ile sentezlenen madde etkileşimlerinin 7 gününde alınan deney sonuçları gözlenmektedir. Alınan bu veriler istatistikî verilerle paralel sonuçlar verdiği

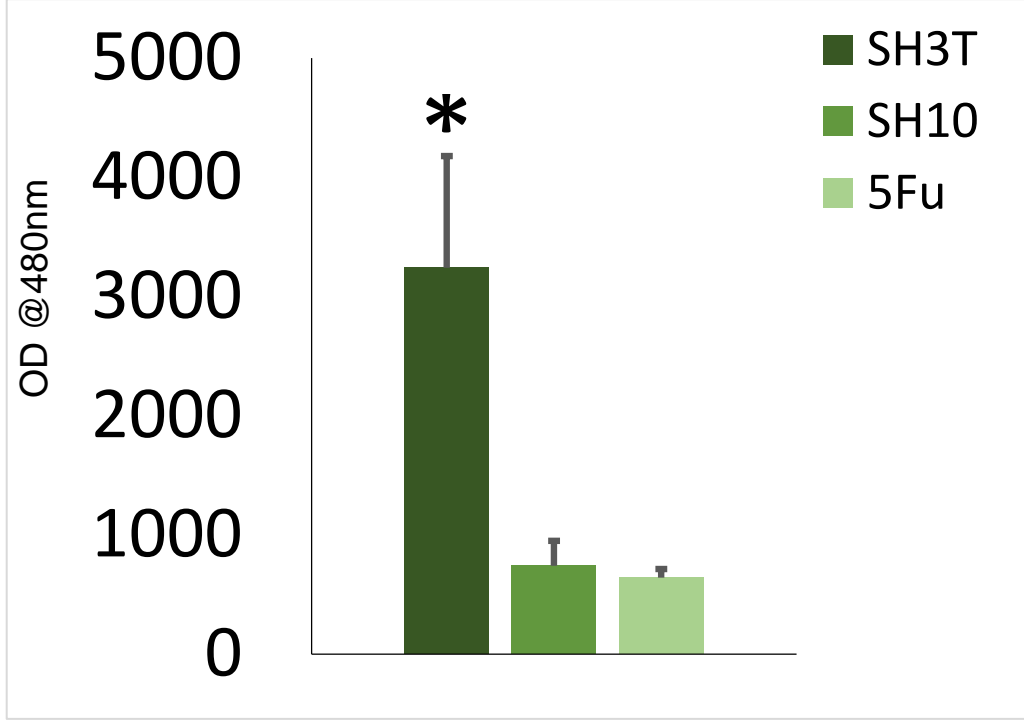


görülmektedir. Kopolimerlerin hücre canlılığına etkisinin kopolimer-ilaç yapılarından oldukça fazla olduğu net olarak ortaya çıkmaktadır [115, 196].



Şekil 4.85. Saos-2 hücrelerinin farklı konsantrasyonda CTC yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) ve polimer-ilaç konjugatı ve bu yapıların etkileşimlerine bağlı olarak hücrelerin 7. günde görülen hücre üreme diagramları ve kontrol grubuyla aralarındaki ilişkisi.

Sonuç olarak tasarlanan bu kopolimer-ilaç yapıların hücre canlılığına etkisi daha önce kullandığımız malzemelerde olduğu gibi hücre ölümüne yol açmaktadır [115]. Ancak bu ölüm nedeninin daha detaylı olarak araştırdığı zaman Saos-2 hücrelerin apoptotik açıdan 5-FU varlığında olümleri gerçekleşmiş olmaktadır [196, 197]. Buradan elde edilebilecek apoptotik bir ölüm bulgusu bu malzemelerin bir anti-tümör ajanı olarak hazırlanabilmesine imkân tanıyabilecektir (Şekil 4.86-87).



Şekil 4.86. Saos-2 hücrelerinin farklı konsantrasyonda NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-ard-NVP) ve polimer-ilaç konjugatı ve bu yapıların etkileşimlerine bağlı olarak hücrelerin 7. günde görülen hücre üreme diagramları ve kontrol grubuyla aralarındaki ilişkisi.

Elde ettiğimiz sonuçlar, istatistiki sonuçlar ile uyuşmaktadır. Gruplar arasında fark istatistiksel olarakda anlamlı olduğu bulgularla eşleşmektedir. Polimer içersindeki hücre çoğaltması ilaç konjugatı ve ilaç örneklerindeki hücre çoğalmasından fazla ve bu fazlalık istatistiksel olarakda anlamlıdır. İstatistiksel bulgulara göre p değeri (Gruplar arasında bulunan farkın tesadüf eseri olma ihtimali) %0.5'ten küçüktür. NMP yöntemi ile sentzlenen ardışık kopolimerlerin Saos-2 hücrelerin apoptotik açıdan 5-FU varlığında ölümleri CTC yöntemine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.

## 5. TOPLU SONUÇLAR

Deneyisel bölümde kullanılacak malzemelerin temini, saflaştırılması (monomer, başlatıcı vb. diğer kimyasallar) yanı sıra, NVP ve MA farklı monomer başlatıcı ve reaksiyon süreleri ve kopolimerin çözelti polimerizasyonu ortamından izolasyonu amaçlı optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Elektron alıcı-MA ve elektron verici-NVP monomer sistemlerinin özellikle çözelti polimerizasyonu tekniği içerisinde [Monomer]/[Çözücü] oranı göz önünde bulundurularak 0.02 M ve 0.03 M monomer derişimleri seçilmiştir. Çöktürme uygunluğu açısından 0.02 M olarak kullanılmıştır. Kopolimerizasyon süresi farklı süreler de yapılmış ancak verim açısından farklılık olmadığı gözlenen 4 saat polimerizasyon süresi olarak alınmıştır. [Monomer]/[Çözücü]=4 olarak, Kopolimerizasyon reaktör hacmi ise 25 mL olarak kullanılmıştır. Kopolimerizasyon reçetesi oluşturulduktan; N-vinil-2-pirolidon (NVP) ve MA farklı monomer besleme oranlarında (MA:NVP=80:20; 60:40; 50:50; 40:60; 20:80) ve klasik radikal başlatıcı (BPO) kullanılarak *p*-dioksan çözücüsünde çözelti polimerizasyonu yapılarak, CTC üzerinden kompleks radikal kopolimerizasyonu ile poli(MA-*ard*-NVP) kopolimeri sentezlenmiştir. Reaksiyon süresi: 4 saat reaksiyon sıcaklığı 75°C kullanılmıştır. Dietil eterde çöktürülen kopolimerler, farklı çözücü sistemleri ile tekrar çözülüp çöktürülerek saflaştırma işlemleri yapılmıştır.

Sentezlenen ardışık anhidrit içeren kopolimerler çözelti ortamından ayrılarak saflaştırma işlemi ve arkasından ise sabit tartım işlemine kadar vakumda 40 °C de kurutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Yük transfer kompleksine ait deneysel çalışmalardan  $K^{AD}$ ,  $\epsilon^{AD}$ ,  $\Delta G^{\circ}$  ve  $E^{AD}$  değerleri hesaplanmıştır.

İkinci adımda hedeflenen önemli bir deneysel kısım ise 5-FU kanser terapi ajanının, yan etkilerini azaltması için kopolimer ve ilaç arasında konjugasyonu TEA katalizör varlığında yapılmıştır. Polimer sistemi ile optimizasyon koşullarda ve DMF çözücü varlığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarına göre en iyi beslenme oranı 50:50 tayin edilmiştir.

Konjugasyon mekanizması, bağlanma şekli ve kopolimerlerin özelliklerinin tayini için ATR-FTIR,  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{19}\text{F}$ -NMR, HR-Raman, Floresans, UV-Vis spektroskopik yöntemleri kullanılmıştır.

Ardışık kopolimerlerin ve 5-FU içeren kopolimer-ilaç konjugatının fiziksel yapıları; amorf/kristal alanları, XRD metodu ile incelenmiştir. Ardışık kopolimerlerin amorf

yapıda ve kopolimer-ilaç konjugatının ise yarı-kristal yapıda oldukları tespit edilmiştir. Sentezlenen kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatlarının kaydedilen TGA termogramlarında iki basamaklı ısıl bozunma ile ağırlık kaybı verdiği ve birinci basamak bozunmanın su ve çözücü ve serbest grupların üzerinden yürüdüğü gözlenmiştir.

DSC termogramlarından belli olduğu gibi, sentezlenen kopolimerlerin  $T_g$  sıcaklığının kopolimer-5-FU konjugatından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca DSC eğrilerine göre, kristalleşme piklerinin oluşmayıp erime endopiklerinin oluşması, 5-FU içeren kopolimerlerin moleküler arası veya moleküller içi güçlü hidrojen-bağları oluşturabilen anhidrit, amit, karboksil ve gruplarına ve makromoleküler segmentlerin hidrofilik/hidrofobik dengeye sahip olmalarından dolayıdır.

Kopolimerler ve kopolimer-ilaç konjugatlarının mekanik özelliklerini incelemek için DMA analizi yapılmıştır. Dinamik mekanik özellikleri (depolama modülüs ve tan delta) incelendiğinde, kopolimerin depolama modülüsleri, kopolimer-ilaç konjugatın depolama modülüs özelliği ile benzer ve tan delta sıcaklık eğrileri kopolimerin davranışına benzer davranışlar göstermektedir. Tan delta-sıcaklık eğrilerinden elde edilen camsı geçiş sıcaklığındaki değişimler 5-FU ile modifiye kopolimerlerin değerlerinden farklılık vermiştir.

5-FU kanser terapi ajanının, yan etkilerinin azaltılması amaçlı kopolimer konjugasyonu hedeflenerek sentez planlanmıştır. 5-FU konjugasyonu için seçilen örneklerinin karakterizasyon çalışmalarında; yapı özellikleri ATR-FTIR, HR-Raman, XRD, NMR ve Floresans ile kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının karakteristik bantlar gözlenmiştir. TGA termogramlarında; 5-FU ile modifiye edilmiş kopolimer konjugatında benzer termal davranış ve yüksek termal kararlılık göstermiştir.

DMA sonuçlarında ise; aromatik halkaya sahip 5-FU'in, kopolimerlere ait takılı grupların hareketlerinin kısıtlamasından ve H-bağının kırılmalarından dolayı kopolimer ile benzer davranışlar ve yakın değerlerde camsı geçiş sıcaklıkları elde edilmiştir.

CTC yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin kaydedilen MALDI-TOF-MS spektrumlarında izlenen pozitif iyon pikleri arasındaki kütle farklarının, kopolimerleri oluşturan MA ve NVP monomerik tekrarlanan grupların molekül kütleleri ile uyumlu

olduğu belirlenmiştir. MALDI-kütle spektrumlarından poli(MA-*alt*-NVP) kopolimerlerin  $M_n$ :4419.38,  $M_w$ :7127.41,  $M_z$ :9301.92, PDI=1.61 tayin edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, kopolimerizasyon; (NVP ve MA farklı monomer besleme oranlarında (MA:NVP=80:20; 60:40; 50:50; 40:60; 20:80) ve klasik radikal başlatıcı (benzoil peroksit, BPO) ve radikal tutucusu 2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloksit (TEMPO) kullanılarak DMF çözücüsünde çözelti polimerizasyonu yapılarak, nitroksit aracılığıyla kopolimer sentezlenmiştir. Reaksiyon süresi: 4 saat ve daha sonra 6 saat, reaksiyon sıcaklığı ise sırayla 95 °C ve 120 °C kullanılmıştır. Diethyl eterde çöktürülen kopolimerler, farklı çözücü sistemleri ile tekrar çözülüp çöktürülerek saflaştırma işlemleri yapılmıştır. Elde edilen ardışık ve antitmor aktiviteye sahip olan kopolimerlerin yapısal olarak karakterizasyonu yapılmıştır.

Elde edilen kopolimer UV-Vis spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Kompleksin molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon^{AD}$ ), denge sabiti ( $K^{AD}$ ) ve geçiş enerjisi ( $E^{AD}$ ) sırasıyla Scott eşitliği ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, sentezlenen kopolimer ardışık kopolimerizasyon sistemi üzerinden devam ettiği belirtilmiştir.

Sentezlenen kopolimerlerin kompozisyonları elemental analiz ile elde edilmiş ve bu monomerlerin reaktif oranları element analizi verilerini ve Kelen-Tds (KT), Mayo-Lewis (ML), Fineman-Ross (FR) ve Inverted Fineman-Ross (IFR) denklemlerini kullanılarak hesaplanmıştır.

Nitroksit aracılığıyla sentezlenen kopolimerin konjugasyonun TEA katalizör varlığında polimer sistemi ile optimizasyon koşullarda ve DMF çözücü varlığında gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon amaçlı, yapı-özellik incelenmesi için analitik (elementel analiz) ve spektroskopik olarak FTIR, NMR ( $^1H$ ,  $^{13}C$  ve  $^{19}F$ ), HR-Raman, UV-Vis, Floresans, XRD, termal özelliklerin incelenmesi için termal analiz yöntemleri (TGA ve DSC) ve mekanik özelliklerin incelenmesi için DMA yöntemleri kullanılarak karakterizasyonu yapılmıştır.

NMP yöntemi ile sentezlenen ardışık kopolimerlerin kopolimer-ilaç konjugatının fiziksel yapıları; amorf/kristal alanları XRD metodu ile incelenmiştir. Bu yöntemle sentezlenen ardışık kopolimerlerin amorf yapıda ve 5-FU içeren kopolimerleri ise yarı-kristal yapıda oldukları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre hesaplanan XRD parametreleri 5-FU içeren kopolimerlerde daha düzenli fiziksel yapıların oluşumunu

göstermekle beraber, tez kapsamında yapılan başka spektroskopi ve ısıl analizlerin sonuçlarını da desteklemektedir.

DSC-TGA ısıl analiz sonuçlarına göre, NMP yöntemi ile sentezlenen ardışık kopolimerlerin camsı geçiş ( $T_g$ ) davranışları, CTC yönteminden elde edilen kopolimerlere göre arttığı gözlemlenmiştir.

Her iki yöntemde ilaçla modifiye edilmiş kopolimerlerin ısıl bozunurluk özellikleri (TGA-DSC analizleri) ardışık kopolimerlere göre daha yüksek sıcaklıklarda gözlemlenmiştir. Bu da kopolimerlerin yan zincirinde oluşan ısıl kararlı kompleksleşmiş karboksil ve amit gruplarının oluşumu ile açıklanabilir.

NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin kaydedilen MALDI-TOF-MS spektrumlarında izlenen pozitif iyon pikleri arasındaki kütle farklarının, kopolimerleri oluşturan MA ve NVP monomerik tekrarlanan grupların molekül kütleleri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. MALDI-kütle spektrumlarından poli(MA-*ard*-NVP) kopolimerlerin  $M_n$ :1942.27,  $M_w$ :2148.76,  $M_z$ :2408.44, PDI=1.11 tayin edilmiştir. Elde edilmiş MALDI-TOF-MS sonuçlarına göre, NMP yöntemi ile sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlığı dağılımı, CTC yöntemine göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara paralel olarak PDI değerlerinde de benzer davranış gözlemlenmiştir.

Sentezlenen yeni nesil suda çözünen biyouyumlu kopolimer ve kopolimer-ilaç konjugatının antitümör özelliklerine sahip gruplar, hidrofobik ve hidrofilik segmenler, serbest karboksil grupları içermektedir. Sentezlenen kopolimerlerin antitümör özellikleri incelenmiştir. Floresans cihazından elde edilen *in vitro* sitotoksitite sonuçlarına göre poli(MA-*ard*-NVP), kopolimer-ilaç konjugatına göre Saos-2 hücrelerine karşı daha yüksek antitümör aktivitesi gösterirler. Bu sonuçlar, incelenen kopolimer sistemlerin gen ve biyomühendislik proseslerinde, ilaç salım sistemlerinde ve kemoterapide kullanılması için yeni gelişmelere imkân sağlamaktadır.

Polimerlere ve polimer-ilaç konjugatına ait biyolojik aktivite sonuçlarına göre; CTC ve NMP yöntemi ile sentezlenen poli(MA-*ard*-NVP) çalışılan her derişimde birbirine yakın toksitite göstermiş ve 7. günden sonra polimer-ilaç konjugatı grubu ile aralarındaki fark belirgin bir biçimde artmıştır. Ancak istatistiksel verileri incelendiğinde canlı kalan hücre sayılarına bakarak, kopolimerlerin, kopolimer-ilaç

konjugatına göre daha fazla canlı hücre sayısı gözlenmektedir. Yapılara ilaç katılmasından dolayı kopolimerlerin yapılarının sitotoksitelerinin, saf kopolimere göre oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir.

Antitümör özelliğe sahip anhidrit içeren kopolimerin yapıların antitümör ajanı olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] Seal, B., Otero, T., Panitch, A., Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 34, 147-230, **2001**.
- [2] Mehdizadeh, M., Yang, J., Design strategies and applications of tissue bioadhesives, *Macromolecular bioscience*, 13, 271-288, **2013**.
- [3] Yaghi, O.M., O'keeffe, M., Ockwig, N.W., Chae, H.K., Eddaoudi, M., Kim, J., Reticular synthesis and the design of new materials, *Nature*, 423, 705-714, **2003**.
- [4] Coelho, J.F., Ferreira, P.C., Alves, P., Cordeiro, R., Fonseca, A.C., Góis, J.R., Gil, M.H., Drug delivery systems: advanced technologies potentially applicable in personalized treatments, *EPMA J*, 1, 164-209, **2010**.
- [5] Siegel, R.A., Rathbone, M.J., Overview of controlled release mechanisms, in *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*. 2012, Springer. p. 19-43.
- [6] Fu, K., Klibanov, A., Langer, R., Protein stability in controlled-release systems, *Nature biotechnology*, 18, 24-25, **2000**.
- [7] Can, H.K., Doğan, A.L., Rzaev, Z.M., Uner, A.H., Güner, A., Synthesis, characterization, and antitumor activity of poly (maleic anhydride-co-vinyl acetate-co-acrylic acid), *Journal of applied polymer science*, 100, 3425-3432, **2006**.
- [8] Brédas, J.-L., Beljonne, D., Coropceanu, V., Cornil, J., Charge-transfer and energy-transfer processes in  $\pi$ -conjugated oligomers and polymers: a molecular picture, *Chemical reviews*, 104, 4971-5004, **2004**.
- [9] Veron, L., Revol, M., Mandrand, B., Delair, T., Synthesis and characterization of poly (N-vinyl pyrrolidone-alt-maleic anhydride): Conjugation with bovine serum albumin, *Journal of applied polymer science*, 81, 3327-3337, **2001**.
- [10] Wang, J.-S., Matyjaszewski, K., Controlled/" living" radical polymerization. Halogen atom transfer radical polymerization promoted by a Cu (I)/Cu (II) redox process, *Macromolecules*, 28, 7901-7910, **1995**.



- [11] Nicolas, J., Guillaneuf, Y., Lefay, C., Bertin, D., Gigmes, D., Charleux, B., Nitroxide-mediated polymerization, *Progress in Polymer Science*, 38, 63-235, **2013**.
- [12] Braunecker, W.A., Matyjaszewski, K., Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives, *Progress in Polymer Science*, 32, 93-146, **2007**.
- [13] Bertin, D., Gigmes, D., Marque, S.R., Tordo, P., Kinetic subtleties of nitroxide mediated polymerization, *Chemical Society Reviews*, 40, 2189-2198, **2011**.
- [14] Nicolas, J., Charleux, B., Guerret, O., Magnet, S., Nitroxide-Mediated Controlled Free-Radical Emulsion Polymerization of Styrene and n-Butyl Acrylate with a Water-Soluble Alkoxyamine as Initiator, *Angewandte Chemie International Edition*, 43, 6186-6189, **2004**.
- [15] Klumperman, B., Mechanistic considerations on styrene–maleic anhydride copolymerization reactions, *Polymer Chemistry*, 1, 558-562, **2010**.
- [16] Francis, M.F., Cristea, M., Winnik, F.M., Polymeric micelles for oral drug delivery: Why and how, *Pure and Applied Chemistry*, 76, 1321-1335, **2004**.
- [17] Vicent, M.J., Duncan, R., Polymer conjugates: nanosized medicines for treating cancer, *Trends in biotechnology*, 24, 39-47, **2006**.
- [18] Elvira, C., Gallardo, A., Roman, J., Cifuentes, A., Covalent polymer-drug conjugates, *Molecules*, 10, 114-125, **2005**.
- [19] Robinson, K., Khan, M., de Paz Banez, M., Wang, X., Armes, S., Controlled polymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate by ATRP at ambient temperature, *Macromolecules*, 34, 3155-3158, **2001**.
- [20] Chung, I.S., Matyjaszewski, K., Synthesis of degradable poly (methyl methacrylate) via ATRP: atom transfer radical ring-opening copolymerization of 5-methylene-2-phenyl-1, 3-dioxolan-4-one and methyl methacrylate, *Macromolecules*, 36, 2995-2998, **2003**.
- [21] Matyjaszewski, K., Patten, T.E., Xia, J., Controlled/"living" radical polymerization. Kinetics of the homogeneous atom transfer radical polymerization of styrene, *Journal of the American Chemical Society*, 119, 674-680, **1997**.

- [22] Queffelec, J., Gaynor, S.G., Matyjaszewski, K., Optimization of atom transfer radical polymerization using Cu (I)/tris (2-(dimethylamino) ethyl) amine as a catalyst,*Macromolecules*, 33, 8629-8639, **2000**.
- [23] Coessens, V., Pintauer, T., Matyjaszewski, K., Functional polymers by atom transfer radical polymerization,*Progress in Polymer Science*, 26, 337-377, **2001**.
- [24] Matyjaszewski, K., Gaynor, S., Greszta, D., Mardare, D., Shigemoto, T., 'Living' and controlled radical polymerization,*Journal of Physical Organic Chemistry*, 8, 306-315, **1995**.
- [25] Matyjaszewski, K., Sumerlin, B.S., Tsarevsky, N.V., Progress in controlled radical polymerization: mechanisms and techniques. 2012: ACS Publications.
- [26] Simal, F., Demonceau, A., Noels, A.F., Highly Efficient Ruthenium-Based Catalytic Systems for the Controlled Free-Radical Polymerization of Vinyl Monomers,*Angewandte Chemie International Edition*, 38, 538-540, **1999**.
- [27] Takahashi, H., Ando, T., Kamigaito, M., Sawamoto, M., Half-Metallocene-Type Ruthenium Complexes as Active Catalysts for Living Radical Polymerization of Methyl Methacrylate and Styrene 1,*Macromolecules*, 32, 3820-3823, **1999**.
- [28] Wang, J.-S., Matyjaszewski, K., Controlled/" living" radical polymerization. Atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes,*Journal of the American Chemical Society*, 117, 5614-5615, **1995**.
- [29] Husseman, M., Malmström, E.E., McNamara, M., Mate, M., Mecerreyes, D., Benoit, D.G., Hedrick, J.L., Mansky, P., Huang, E., Russell, T.P., Controlled synthesis of polymer brushes by "living" free radical polymerization techniques,*Macromolecules*, 32, 1424-1431, **1999**.
- [30] Chiefari, J., Chong, Y., Ercole, F., Krstina, J., Jeffery, J., Le, T.P., Mayadunne, R.T., Meijs, G.F., Moad, C.L., Moad, G., Living free-radical polymerization by reversible addition-fragmentation chain transfer: the RAFT process,*Macromolecules*, 31, 5559, **1998**.

- [31] Perrier, S., Takolpuckdee, P., Macromolecular design via reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT)/xanthates (MADIX) polymerization,*Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 43, 5347-5393, **2005**.
- [32] Mayadunne, R.T., Rizzardo, E., Chiefari, J., Chong, Y.K., Moad, G., Thang, S.H., Living radical polymerization with reversible addition– fragmentation chain transfer (RAFT polymerization) using dithiocarbamates as chain transfer agents,*Macromolecules*, 32, 6977-6980, **1999**.
- [33] Lambrinos, P., Tardi, M., Polton, A., Sigwalt, P., The mechanism of the polymerization of n. butyl acrylate initiated with N, N-diethyl dithiocarbamate derivatives,*European Polymer Journal*, 26, 1125-1135, **1990**.
- [34] Matsumoto, A., Otsu, T., Radical polymerization of methyl acrylate by use of benzyl N, N-diethyldithiocarbamate in combination with tetraethylthiuram disulfide as a two-component iniferter,*Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 32, 2911-2918, **1994**.
- [35] Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., Living radical polymerization by the RAFT process—a first update,*Australian Journal of Chemistry*, 59, 669-692, **2006**.
- [36] Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., Radical addition–fragmentation chemistry in polymer synthesis,*Polymer*, 49, 1079-1131, **2008**.
- [37] Moad, G., Rizzardo, E., The History of Nitroxide-mediated Polymerization,**2015**.
- [38] Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., Toward living radical polymerization,*Accounts of chemical research*, 41, 1133-1142, **2008**.
- [39] Moad G, Rizzardo E, Solomon DH. Selectivity of the reaction of free radicals with styrene,*Macromolecules*, 15(3), 909-14. **1982**.
- [40] Matyjaszewski, K., Tsarevsky, N.V., Nanostructured functional materials prepared by atom transfer radical polymerization,*Nature chemistry*, 1, 276-288, **2009**.
- [41] Grubbs, R.B., Hawker, C.J., Dao, J., Fréchet, J.M., A tandem approach to graft and dendritic graft copolymers based on “living” free radical

polymerizations, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36, 270-272, **1997**.

- [42] Greszta, D., Matyjaszewski, K., TEMPO-mediated polymerization of styrene: Rate enhancement with dicumyl peroxide, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 35, 1857-1861, **1997**.
- [43] Hawker, C.J., Molecular weight control by a "living" free-radical polymerization process, *Journal of the American Chemical Society*, 116, 11185-11186, **1994**.
- [44] Hawker, C.J., Hedrick, J.L., Accurate control of chain ends by a novel living free-radical polymerization process, *Macromolecules*, 28, 2993-2995, **1995**.
- [45] Hawker, C.J., "Living" free radical polymerization: a unique technique for the preparation of controlled macromolecular architectures, *Accounts of chemical research*, 30, 373-382, **1997**.
- [46] Hawker, C.J., Bosman, A.W., Harth, E., New polymer synthesis by nitroxide mediated living radical polymerizations, *Chemical Reviews*, 101, 3661-3688, **2001**.
- [47] Kazmaier, P.M., Daimon, K., Georges, M.K., Hamer, G.K., Veregin, R.P., Nitroxide-mediated "living" free radical polymerization: a rapid polymerization of (chloromethyl) styrene for the preparation of random, block, and segmental arborescent polymers, *Macromolecules*, 30, 2228-2231, **1997**.
- [48] Bilalis, P., Pitsikalis, M., Hadjichristidis, N., Controlled nitroxide-mediated and reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization of N-vinylpyrrolidone: Synthesis of block copolymers with styrene and 2-vinylpyridine, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44, 659-665, **2006**.
- [49] Fischer, H., The persistent radical effect in "living" radical polymerization, *Macromolecules*, 30, 5666-5672, **1997**.
- [50] Listigovers, N.A., Georges, M.K., Odell, P.G., Keoshkerian, B., Narrow-polydispersity diblock and triblock copolymers of alkyl acrylates by a living stable free radical polymerization, *Macromolecules*, 29, 8992-8993, **1996**.

- [51] Keoshkerian, B., Georges, M., Quinlan, M., Veregin, R., Goodbrand, B., Polyacrylates and polydienes to high conversion by a stable free radical polymerization process: Use of reducing agents, *Macromolecules*, 31, 7559-7561, **1998**.
- [52] Rempp, P., Franta, E., Herz, J.-E., Macromolecular engineering by anionic methods, *Polysiloxane Copolymers/Anionic Polymerization*, 145-173, **1988**.
- [53] Mulliken, R.S., Molecular compounds and their spectra. II, *Journal of the American Chemical Society*, 74, 811-824, **1952**.
- [54] Grubbs, R.B., Nitroxide-mediated radical polymerization: limitations and versatility, *Polymer Reviews*, 51, 104-137, **2011**.
- [55] Benoit, D., Chaplinski, V., Braslau, R., Hawker, C.J., Development of a universal alkoxyamine for "living" free radical polymerizations, *Journal of the American Chemical Society*, 121, 3904-3920, **1999**.
- [56] Mpitso, K., *Synthesis and characterization of styrene–maleic anhydride copolymer derivatives*, **2009**.
- [57] Studer, A., Tin-free radical chemistry using the persistent radical effect: alkoxyamine isomerization, addition reactions and polymerizations, *Chemical Society Reviews*, 33, 267-273, **2004**.
- [58] Benson-Smith, J.J., Goris, L., Vandewal, K., Haenen, K., Manca, J.V., Vanderzande, D., Bradley, D.D., Nelson, J., Formation of a Ground-State Charge-Transfer Complex in Polyfluorene//[6, 6]-Phenyl-C61 Butyric Acid Methyl Ester (PCBM) Blend Films and Its Role in the Function of Polymer/PCBM Solar Cells, *Advanced Functional Materials*, 17, 451-457, **2007**.
- [59] Foster, R., Organic charge-transfer complexes, **1969**.
- [60] Grebenyuk, S.A., Perepichka, I.F., Popov, A.F., Evaluation of the parameters of 1: 1 charge transfer complexes from spectrophotometric data by non-linear numerical method, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 58, 2913-2923, **2002**.

- [61] Fritz, R., Rettig, W., Nishiyama, K., Okada, T., Müller, U., Müllen, K., Excitonic and charge transfer states in oligomeric 9, 10-anthrylene chains, *The Journal of Physical Chemistry A*, 101, 2796-2802, **1997**.
- [62] Askal, H.F., Spectrophotometric study of the charge transfer complexes of some pharmaceutical butyrophenones, *Talanta*, 44, 1749-1755, **1997**.
- [63] Mulliken, R.S., Structures of complexes formed by halogen molecules with aromatic and with oxygenated solvents<sup>1</sup>, *Journal of the American Chemical Society*, 72, 600-608, **1950**.
- [64] Bakulin, A., Elizarov, S., Khodarev, A., Martyanov, D., Golovnin, I., Paraschuk, D.Y., Triebel, M., Tolstov, I., Frankevich, E., Arnautov, S., Weak charge-transfer complexes based on conjugated polymers for plastic solar cells, *synthetic Metals*, 147, 221-225, **2004**.
- [65] Goris, L., Haenen, K., Nesladek, M., Wagner, P., Vanderzande, D., Schepper, L.d., D'haen, J., Lutsen, L., Manca, J., Absorption phenomena in organic thin films for solar cell applications investigated by photothermal deflection spectroscopy, *Journal of materials science*, 40, 1413-1418, **2005**.
- [66] Patten, T.E., Matyjaszewski, K., Atom transfer radical polymerization and the synthesis of polymeric materials, *Advanced Materials*, 10, 901-915, **1998**.
- [67] Wise, A.J., Grey, J.K., Resonance Raman studies of excited state structural displacements of conjugated polymers in donor/acceptor charge transfer complexes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14, 11273-11276, **2012**.
- [68] Sosorev, A.Y., Paraschuk, D.Y., Charge-Transfer Complexes of Conjugated Polymers, *Israel Journal of Chemistry*, 54, 650-673, **2014**.
- [69] Bruevich, V., Makhmutov, T.S., Elizarov, S., Nechvolodova, E., Paraschuk, D.Y., Ground state of  $\pi$ -conjugated polymer chains forming an intermolecular charge-transfer complex as probed by Raman spectroscopy, *Journal of Experimental and Theoretical Physics*, 105, 469-478, **2007**.
- [70] Ayad, M., El-Hefnawy, G., Bahlol, G., Charge transfer complexes of methylnaphthalene derivatives with TCNE in CCl<sub>4</sub>, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 58, 161-166, **2002**.

- [71] Parashchuk, O.D., Grigorian, S., Levin, E.E., Bruevich, V.V., Bukunov, K., Golovnin, I.V., Dittrich, T., Dembo, K.A., Volkov, V.V., Paraschuk, D.Y., Acceptor-enhanced local order in conjugated polymer films, *The journal of physical chemistry letters*, 4, 1298-1303, **2013**.
- [72] Bruevich, V., Makhmutov, T.S., Elizarov, S., Nechvolodova, E., Paraschuk, D.Y., Raman spectroscopy of intermolecular charge transfer complex between a conjugated polymer and an organic acceptor molecule, *The Journal of chemical physics*, 127, 104905, **2007**.
- [73] Lange, R.F., Meijer, E., Supramolecular polymer interactions based on the alternating copolymer of styrene and maleimide, *Macromolecules*, 28, 782-783, **1995**.
- [74] Cais, R., Farmer, R., Hill, D., O'Donnell, J., An analysis of the complex participation model for free-radical copolymerization, *Macromolecules*, 12, 835-839, **1979**.
- [75] Hanna, M.W., Ashbaugh, A.L., Nuclear Magnetic Resonance Study of Molecular Complexes of 7, 7, 8, 8-Tetracyanoquinodimethane and Aromatic Donors, *The Journal of Physical Chemistry*, 68, 811-816, **1964**.
- [76] Cowie, J., Alternating copolymers Plenum Press, *New York*, **1985**.
- [77] Vosburgh, W.C., Cooper, G.R., Complex ions. I. The identification of complex ions in solution by spectrophotometric measurements, *Journal of the American Chemical Society*, 63, 437-442, **1941**.
- [78] Rzaev, Z., Polymers and copolymers of maleic anhydride, *Elm, Baku*, 114108w, **1984**.
- [79] Hassel, O., Structural aspects of interatomic charge-transfer bonding, *Science*, 170, 497-502, **1970**.
- [80] Pullman, A., Pullman, B., Electronic Structure and Carcinogenic Activity of Aromatic Molecules New Developments, *Advances in cancer research*, 3, 117-169, **1955**.
- [81] Cowie, J., General (Chain Polymerization) Concepts, *Pergamon Press plc, Comprehensive Polymer Science: the Synthesis, Characterization, Reactions & Applications of Polymers.*, 3, 1-15, **1989**.

- [82] Gaylord, N.G., Maiti, S., Donor-Acceptor Complexes in Copolymerization. XXXVII. Alternating Diene-Dienophile Copolymers. 5. Formation of Conjugated Diene-Maleic Anhydride Copolymers through Retrograde Dissociation of Furan-Maleic Anhydride Diels-Alder Adduct, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 6, 1481-1493, **1972**.
- [83] Walling, C., Briggs, E.R., Wolfstirn, K.B., Mayo, F.R., Copolymerization. X. The effect of meta-and para-substitution on the reactivity of the styrene double bond, *Journal of the American Chemical Society*, 70, 1537-1542, **1948**.
- [84] Trivedi, B., Maleic anhydride. 2013: Springer Science & Business Media.
- [85] Bartlett, P.D., Nozaki, K., The Polymerization of Allyl Compounds. III. The Peroxide-induced Copolymerization of Allyl Acetate with Maleic Anhydride<sup>1</sup>, *Journal of the American Chemical Society*, 68, 1495-1504, **1946**.
- [86] Booth, D., Dainton, F., Ivin, K., Thermodynamics of formation and absorption spectra of 1: 1 complexes between sulphur dioxide and olefines, *Transactions of the Faraday Society*, 55, 1293-1309, **1959**.
- [87] Barb, W. *The copolymerization of styrene and sulphur dioxide. I. Properties and composition of the copolymer, and evidence for the existence of a styrene/sulphur dioxide complex.* in *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 1952. The Royal Society.
- [88] Tokura, N., *Kogyo Kagaku Zasshi* 1961, 64, 501. Tokura, N.; Matsuda, M., *Kogyo Kagaku Zasshi*, 65, 1095, **1962**.
- [89] Tokura, N., Matsuda, M., RADICAL POLYMERIZATION OF STYRENE IN LIQUID SULFUR DIOXIDE, *Kogyo Kagaku Zasshi*, 64, 501-&, **1961**.
- [90] Sakudo, A., Baba, K., Tsukamoto, M., Sugimoto, A., Okada, T., Kobayashi, T., Kawashita, N., Takagi, T., Ikuta, K., Anionic polymer, poly (methyl vinyl ether–maleic anhydride)-coated beads-based capture of human influenza A and B virus, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 752-757, **2009**.
- [91] Sandoval, A.A., Hanna, M.W., Nuclear Magnetic Resonance Study of Molecular Complexes of Dimethylformamide with Aromatic Donors<sup>1</sup>, *The Journal of Physical Chemistry*, 70, 1203-1206, **1966**.



- [92] Caze, C., Loucheux, C., Mechanism of alternating copolymerization of vinyl acetate and maleic anhydride, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 9, 29-43, **1975**.
- [93] Bai, R.K., You, Y.Z., Pan, C.Y., <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -Irradiation-Initiated "Living" Free-Radical Polymerization in the Presence of Dibenzyl Trithiocarbonate, *Macromolecular rapid communications*, 22, 315-319, **2001**.
- [94] Seymour, R.B., Garner, D.P., Sanders, L.J., Alternating and random copolymers of vinyl acetate and maleic anhydride, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 13, 173-181, **1979**.
- [95] Seymour, R., Garner, D., Laboratory and successional studies with aureobasidium pullulans, *J. Coat. Technol.*, 48, 41-45, **1976**.
- [96] Tsuchida, E., Tomono, T., Sano, H., Solvent effects on the alternating copolymerization systems. Evaluation on equilibrium constants by NMR spectroscopy, *Die Makromolekulare Chemie*, 151, 245-264, **1972**.
- [97] Butler, G.B., Fujimori, K., Studies in Cyclocopolymerization. VIII. Solvent Effects in Cyclocopolymerization of Maleic Anhydride with Divinyl Ether, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 6, 1533-1568, **1972**.
- [98] Butler, G.B., Badgett, J.T., Sharabash, M., Characterization of the Charge Transfer Complex from Furan and Maleic Anhydride and the Alternating Copolymer, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 4, 51-63, **1970**.
- [99] Butler, G.B., Vanhaeren, G., Ramadier, M.F., Studies in cyclocopolymerization. III. Copolymerization of divinyl ether with certain nitrogen-containing alkenes, *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*, 5, 1265-1277, **1967**.
- [100] Butler, G.B., Joyce, K.C. *Studies in cyclocopolymerization. IV. Evidence of charge-transfer complexes as intermediates in cyclocopolymerization of 1, 4-dienes with alkenes.* in *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*. 1968. Wiley Online Library.
- [101] Gaylord, N.G., Maiti, S., Alternating diene-dienophile copolymers. II. A proposed mechanism for the effect of radicals on the polymerization of

- comonomer charge-transfer complexes,*Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters*, 9, 359-366, **1971**.
- [102] Gaylord, N.G., Stolka, M., Takahashi, A., Maiti, S., Donor-Acceptor Complexes in Copolymerization. XVIII. Alternating Diene–Dienophile Copolymers. 1. Conjugated Diene–Maleic Anhydride Copolymers through Radical-Catalyzed Polymerization,*Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 5, 867-881, **1971**.
- [103] Barton, J.M., Butler, G.B., Chapin, E.C., Studies in cyclocopolymerization. Relative rates of addition in the free radical-initiated copolymerization of 1, 4-dienes and substituted olefins,*Journal of Polymer Science Part A: General Papers*, 3, 501-511, **1965**.
- [104] Wang, S., Du, L., Zhao, X., Meng, Y., Tjong, S., Synthesis and characterization of alternating copolymer from carbon dioxide and propylene oxide,*Journal of applied polymer science*, 85, 2327-2334, **2002**.
- [105] Van Heiningen, J.J., Butler, G.B., The Fundamental Basis for Cyclopolymerization. VII. A Cyclopolymerization Study of Certain Allylcycloalkenes,*Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 8, 1175-1204, **1974**.
- [106] Georgiev, G., Konstantinov, C., Kabaivanov, V., Role of the charge-transfer complex during the copolymerization of N-vinylpyrrolidone and maleic anhydride,*Macromolecules*, 25, 6302-6308, **1992**.
- [107] Georgiev G, Konstantinov C, Kabaivanov V. Coated reactive carriers based on copolymers of 1-vinyl-2-pyrrolidone and maleic anhydride for immobilization of enzymes, 16, 1609-1613, **1996**.
- [108] Mehdiinia, A., Ghassempour, A., Rafati, H., Heydari, R., Determination of N-vinyl-2-pyrrolidone and N-methyl-2-pyrrolidone in drugs using polypyrrole-based headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–nitrogen-phosphorous detection,*Analytica chimica acta*, 587, 82-88, **2007**.
- [109] Bacu, E., Chitanu, G.C., Couture, A., Grandclaoudon, P., Singurel, G., Carpov, A., Potential drug delivery systems from maleic anhydride copolymers and phenothiazine derivatives,*European polymer journal*, 38, 1509-1513, **2002**.
- [110] Can, H.K., Charge transfer complex formation in in-situ maleic anhydride and N-vinyl caprolactam copolymer and copolymer/organo-montmorillonite

- nanoarchitectures,*Journal of Macromolecular Science, Part A*, 53, 26-33, **2016**.
- [111] Can, H.K., Karakus, G., Tuzcu, N., Synthesis, characterization and in vitro antibacterial assessments of a novel modified poly [maleic anhydride-alt-acrylic acid]/acriflavine conjugate,*Polymer bulletin*, 71, 2903-2921, **2014**.
- [112] Kavlak, S., Kaplan Can, H., Rzaev, Z.M., Güner, A., Thermal properties of poly (maleic anhydride-alt-acrylic acid) in the presence of certain metal chlorides,*Journal of applied polymer science*, 100, 3926-3930, **2006**.
- [113] Rzaev, Z.M., Complex-radical terpolymerization of glycidyl (methyl) methacrylates, styrene, and maleic anhydride,*Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 37, 1095-1102, **1999**.
- [114] Boztuğ, A., Basan, S., Characterization and synthesis of maleic anhydride-styrene-vinyl acetate terpolymer ester derivatives,*Journal of materials science*, 39, 6843-6846, **2004**.
- [115] Can, H.K., Gürpınar, Ö.A., Onur, M.A., Rzaev, Z.M., Güner, A., Investigation of cytotoxic effects of new maleic anhydride binary and ternary copolymers on L929 mouse fibroblasts,*Journal of applied polymer science*, 115, 1366-1370, **2010**.
- [116] Seymour, R.B., Harris, F.F., Branum, I., Copolymers of Vinyl Compounds and Maleic Anhydride,*Industrial & Engineering Chemistry*, 41, 1509-1513, **1949**.
- [117] Popescu, I., Suflet, D.M., Pelin, I.M., Chitanu, G.C., Biomedical applications of maleic anhydride copolymers,*Rev Roum Chim*, 56, 173-188, **2011**.
- [118] Culbertson, B., Maleic anhydride uses in resins and polymers,*Catalysis Today*, 1, 609-629, **1987**.
- [119] CHIȚANU, G.C., POPESCU, I., PELIN, I.M., AVADANEI, M.I., Synthesis and characterization of maleic anhydride copolymer and their derivatives. 4. synthesis and characterization of maleic anhydride-acrylonitrile copolymers,*Revue Roumaine de Chimie*, 53, 577-583, **2008**.
- [120] Zhou, P., Deng, Y., Preparation of Polymers and its applications: Maleic Anhydride,*Chemical Journal of Chinese Universities*, **1998**.

- [121] Qiu, L.Y., Bae, Y.H., Polymer architecture and drug delivery, *Pharmaceutical research*, 23, 1-30, **2006**.
- [122] Lehman, J.W., Operational Organic Chemistry: A Problem-Solving Approach to the Laboratory Course. 2009: Prentice Hall.
- [123] Rzaev, Z.M., Graft copolymers of maleic anhydride and its isostructural analogues: high performance engineering materials, *arXiv preprint arXiv:1105.1260*, **2011**.
- [124] Linehan D. The uptake by plants of polymaleic acid: a polycarboxylic acid structurally related to those of soils. *Plant and Soil*, 50(1-3), 625-32, **1978**.
- [125] Davis, T.P., Huglin, M.B., Yip, D.C., Properties of poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels crosslinked with ethyleneglycol dimethacrylate, *Polymer*, 29, 701-706, **1988**.
- [126] Devine, D.M., Devery, S.M., Lyons, J.G., Geever, L.M., Kennedy, J.E., Higginbotham, C.L., Multifunctional polyvinylpyrrolidinone-polyacrylic acid copolymer hydrogels for biomedical applications, *International journal of pharmaceutics*, 326, 50-59, **2006**.
- [127] Tomalia, A., Luskin, L., Functional monomers. vol. 2, *II* (eds. Yocum, H. et Nyquist, B.), 39-48, **1974**.
- [128] Breslow, D., Biologically active synthetic polymers, *Pure and Applied Chemistry*, 46, 103-113, **1976**.
- [129] Cho, K., Wang, X., Nie, S., Shin, D.M., Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer, *Clinical cancer research*, 14, 1310-1316, **2008**.
- [130] Mura, S., Nicolas, J., Couvreur, P., Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery, *Nature materials*, 12, 991-1003, **2013**.
- [131] Nicolas, J., Mura, S., Brambilla, D., Mackiewicz, N., Couvreur, P., Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery, *Chemical Society Reviews*, 42, 1147-1235, **2013**.

- [132] Danhier, F., Feron, O., Préat, V., To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery,*Journal of Controlled Release*, 148, 135-146, **2010**.
- [133] Ringsdorf, H. *Structure and properties of pharmacologically active polymers*. in *Journal of Polymer Science: Polymer Symposia*. 1975. Wiley Online Library.
- [134] Saad, G.R., Morsi, R.E., Mohammady, S.Z., Elsabee, M.Z., Dielectric relaxation of monoesters based poly (styrene-co-maleic anhydride) copolymer,*Journal of Polymer Research*, 15, 115-123, **2008**.
- [135] Can, H.K., Doğan, A.L., Rzaev, Z.M., Uner, A.H., Güner, A., Synthesis and antitumor activity of poly (3, 4-dihydro-2H-pyran-co-maleic anhydride-co-vinyl acetate),*Journal of applied polymer science*, 96, 2352-2359, **2005**.
- [136] Jain, J.P., Modi, S., Domb, A., Kumar, N., Role of polyanhydrides as localized drug carriers,*Journal of Controlled Release*, 103, 541-563, **2005**.
- [137] Nishiyama, N., Kataoka, K., Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery,*Pharmacology & therapeutics*, 112, 630-648, **2006**.
- [138] Zhang, Y., Chan, H.F., Leong, K.W., Advanced materials and processing for drug delivery: the past and the future,*Advanced drug delivery reviews*, 65, 104-120, **2013**.
- [139] Popescu, M.-T., Mourtas, S., Pampalakis, G., Antimisiaris, S.G., Tsitsilianis, C., pH-responsive hydrogel/liposome soft nanocomposites for tuning drug release,*Biomacromolecules*, 12, 3023-3030, **2011**.
- [140] Ganta, S., Devalapally, H., Shahiwala, A., Amiji, M., A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery,*Journal of Controlled Release*, 126, 187-204, **2008**.
- [141] Breslow, D.S., Edwards, E.I., Newburg, N.R., Divinyl ether-maleic anhydride (pyran) copolymer used to demonstrate the effect of molecular weight on biological activity,*Nature*, 246, 160-162, **1973**.

- [142] Barsbay, M., Kaplan Can, H., Rzaev, Z.M., Güner, A., Design and Properties of New Functional Water–Soluble Polymers of Citraconic Anhydride (CA) and Related Copolymers, *Polymer Bulletin*, 53, 305-314, **2005**.
- [143] Hu, X., Jing, X., Biodegradable amphiphilic polymer–drug conjugate micelles, *Expert opinion on drug delivery*, 6, 1079-1090, **2009**.
- [144] Duncan, R., Ringsdorf, H., Satchi-Fainaro, R., Polymer therapeutics—polymers as drugs, drug and protein conjugates and gene delivery systems: past, present and future opportunities, *Journal of drug targeting*, 14, 337-341, **2006**.
- [145] Can, H.K., Rzaev, Z., Güner, A., H-bonding effect in radical terpolymerization of maleic anhydride, acrylic acid (methyl acrylate) and vinyl acetate, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 40, 427-443, **2012**.
- [146] Duncan, R., The dawning era of polymer therapeutics, *Nature reviews Drug discovery*, 2, 347-360, **2003**.
- [147] Ito, H., Marty, J.D., Mauzac, M., *Microlithography/Molecular Imprinting*. Vol. 172. 2005: Springer Science & Business Media.
- [148] Gregory, A., Stenzel, M.H., Complex polymer architectures via RAFT polymerization: From fundamental process to extending the scope using click chemistry and nature's building blocks, *Progress in Polymer Science*, 37, 38-105, **2012**.
- [149] Li, C., Wallace, S., Polymer-drug conjugates: recent development in clinical oncology, *Advanced drug delivery reviews*, 60, 886-898, **2008**.
- [150] Maeda, H., Ueda, M., Morinaga, T., Matsumoto, T., Conjugation of poly (styrene-co-maleic acid) derivatives to the antitumor protein neocarzinostatin: pronounced improvements in pharmacological properties, *Journal of medicinal chemistry*, 28, 455-461, **1985**.
- [151] Khandare, J., Minko, T., Polymer–drug conjugates: progress in polymeric prodrugs, *Progress in Polymer Science*, 31, 359-397, **2006**.
- [152] Longley, D.B., Harkin, D.P., Johnston, P.G., 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies, *Nature Reviews Cancer*, 3, 330-338, **2003**.

- [153] Moertel, C., Frytak, S., Hahn, R., O'Connell, M., Reitemeier, R., Rubin, J., Schutt, A., Weiland, L., Childs, D., Holbrook, M., Therapy of locally unresectable pancreatic carcinoma: A randomized comparison of high dose (6000 rads) radiation alone, moderate dose radiation (4000 rads+ 5-fluorouracil), and high dose radiation+ 5-fluorouracil. The gastrointestinal tumor study group, *Cancer*, 48, 1705-1710, **1981**.
- [154] Jang, Y.H., Sowers, L.C., Çağın, T., Goddard, W.A., First principles calculation of p K a values for 5-substituted uracils, *The Journal of Physical Chemistry A*, 105, 274-280, **2001**.
- [155] Markova, N., Enchev, V., Timtcheva, I., Oxo- Hydroxy Tautomerism of 5-Fluorouracil: Water-Assisted Proton Transfer, *The Journal of Physical Chemistry A*, 109, 1981-1988, **2005**.
- [156] Lee, H., Ooya, T., <sup>19</sup>F-NMR, <sup>1</sup>H-NMR, and fluorescence studies of interaction between 5-fluorouracil and polyglycerol dendrimers, *The Journal of Physical Chemistry B*, 116, 12263-12267, **2012**.
- [157] Can, H.K., Kavlak, S., ParviziKhosroshahi, S., Güner, A., Preparation, characterization and dynamical mechanical properties of dextran-coated iron oxide nanoparticles (DIONPs), *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 1-11, **2017**.
- [158] Ercan, T., FUJİTANİ, T., MATSUDA, J.-I., Notsu, K., TOKEL, S., Uİ, T., NEOJEN VE KUVATERNER VOLKANİZMASININ BÖLGESEL YAYILIMI VE JEOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ, **1990**.
- [159] Ovalı, E., Uçar F., *Hematolojide uygulamalı hücre teknikleri kurs kitabı. Trabzon*, 217, 7-16, **2003**.
- [160] Ovalı E. Uçar F. *Hematolojide uygulamalı hücre teknikleri kurs kitabı Trabzon*, 217, 7-16, **2003**.
- [161] Medyakova, L., Rzaev, Z.M., Güner, A., Kibarer, G., Complex-radical terpolymerization of acceptor-donor-acceptor systems: Maleic anhydride (n-butyl methacrylate)-styrene-acrylonitrile, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 38, 2652-2662, **2000**.
- [162] Tüdös, F., Kelen, T., Nagy, T., Turcsanyi, B., Polymer-analogous reactions of polyenes in poly (vinylchloride), *Pure and Applied Chemistry*, 38, 201-226, **1974**.

- [163] Joshi, R., Joshi, S., A new analytical solution of the binary copolymer composition equation and suggested procedure for deriving the monomer reactivity ratios, *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, 5, 1329-1338, **1971**.
- [164] Darvishi, A., Zohuriaan Mehr, M.J., Marandi, G.B., Kabiri, K., Bouhendi, H., Bakhshi, H., Copolymers of glycidyl methacrylate and octadecyl acrylate: synthesis, characterization, swelling properties, and reactivity ratios, *Designed Monomers and Polymers*, 16, 79-88, **2013**.
- [165] Otsu, T., Watanabe, H., Yang, J.Z., Yoshioka, M., Matsumoto, A. *Synthesis and characterization of polymers from itaconic acid derivatives*. in *Makromolekulare Chemie. Macromolecular Symposia*. 1992. Wiley Online Library.
- [166] Denizli, B.K., Can, H.K., Rzaev, Z.M., Guner, A., Preparation conditions and swelling equilibria of dextran hydrogels prepared by some crosslinking agents, *Polymer*, 45, 6431-6435, **2004**.
- [167] Nelson, S.M., Busch, D.H., Seven-coordination in some mononuclear and binuclear iron (III) complexes containing a pentadentate macrocyclic ring, *Inorganic Chemistry*, 8, 1859-1863, **1969**.
- [168] Briegleb, G., Chem. 72 (1960) 401; G. Briegleb, *Z. Angew. Chem*, 76, 326, **1964**.
- [169] Can, H.K., Parvizikhosroshahi, S., Uluişik, E.C., Studies of miscibility and specific interactions of antitumor-active anhydride copolymer and poly (ethylene glycol) blends, *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44, 680-689, **2016**.
- [170] Erdemi, H., Bozkurt, A., Synthesis and characterization of poly (vinylpyrrolidone-co-vinylphosphonic acid) copolymers, *European polymer journal*, 40, 1925-1929, **2004**.
- [171] Brar, A.S., Kumar, R., Sequence determination of N-vinyl-2-pyrrolidone/acrylonitrile copolymers by NMR spectroscopy, *European polymer journal*, 37, 1827-1835, **2001**.
- [172] Damaceanu, M.-D., Mihai, M., Popescu, I., Bruma, M., Schwarz, S., Synthesis and characterization of a new oxadiazole-functionalized maleic



anhydride-N-vinylpyrrolidone copolymer and its application in CaCO<sub>3</sub> based microparticles, *Reactive and Functional Polymers*, 72, 635-641, **2012**.

- [173] Hu, Z., Zhang, Z., "Gradient" polymer prepared by complex-radical terpolymerization of styrene, maleic anhydride, and N-vinyl pyrrolidone via  $\gamma$ -ray irradiation by use of a RAFT process: synthesis, mechanism, and characterization, *Macromolecules*, 39, 1384-1390, **2006**.
- [174] Güven, G., Rzaev, Z.M., Complex-radical copolymerization of N-vinyl pyrrolidone with isostructural analogs of maleic anhydride, *Polymer Bulletin*, 60, 741-752, **2008**.
- [175] Auzély-Velty, R., Cristea, M., Rinaudo, M., Galactosylated N-Vinylpyrrolidone– Maleic Acid Copolymers: Synthesis, Characterization, and Interaction with Lectins, *Biomacromolecules*, 3, 998-1005, **2002**.
- [176] Ozaki, S., Ike, Y., Mizuno, H., Ishikawa, K., Mori, H., 5-Fluorouracil derivatives. I. The synthesis of 1-carbamoyl-5-fluorouracils, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 50, 2406-2412, **1977**.
- [177] Parisot, D., Malet-Martino, M., Crasnier, P., Martino, R., <sup>19</sup>F nuclear magnetic resonance analysis of 5-fluorouracil metabolism in wild-type and 5-fluorouracil-resistant *Nectria haematococca*, *Applied and environmental microbiology*, 55, 2474-2479, **1989**.
- [178] Schlemmer, H.-P., Becker, M., Bachert, P., Dietz, A., Rudat, V., Vanselow, B., Wollensack, P., Zuna, I., Knopp, M.V., Weidauer, H., Alterations of intratumoral pharmacokinetics of 5-fluorouracil in head and neck carcinoma during simultaneous radiochemotherapy, *Cancer research*, 59, 2363-2369, **1999**.
- [179] Martino, R., Gilard, V., Malet-Martino, M., Fluorine-19 or phosphorus-31 NMR spectroscopy: a powerful technique for biofluid metabolic studies and pharmaceutical formulation analysis of fluorinated or phosphorylated drugs, *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*, **2008**.
- [180] Parker, J.B., Stivers, J.T., Dynamics of uracil and 5-fluorouracil in DNA, *Biochemistry*, 50, 612-617, **2011**.
- [181] Hamley, I.W., Self-Assembling Nanostructured Molecular Materials and Devices, *Nanoscale Science and Technology*, 343-376, **2005**.

- [182] Iojoiu, C., Cade, D., Fessi, H., Hamaide, T., Synthesis of oligocaprolactone vinyl ether macromonomers and their use for indomethacin encapsulation in polymer nanoparticles based on polycaprolactone macromonomer–maleic anhydride–N-vinyl pyrrolidone terpolymers, *Polymer international*, 55, 222-228, **2006**.
- [183] Chitanu, G.C., Popescu, I., Carpov, A., SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MALEIC ANHYDRIDE COPOLYMERS AND THEIR DERIVATIVES, *Revue Roumaine de Chimie*, 51, 923-929, **2006**.
- [184] Kelen, T., *Macromol Sci A* 1976; 10: 1513;(b) Kelen T, Tüdos F, *J Macromol Sci A*, 16, 1238, **1981**.
- [185] Hawker, C.J., Barclay, G.G., Dao, J., Radical crossover in nitroxide mediated “living” free radical polymerizations, *Journal of the American Chemical Society*, 118, 11467-11471, **1996**.
- [186] Hemalatha, P., Veeraiyah, M., Prasannakumar, S., Anasuya, K., Synthesis, characterisation and antibacterial activity of copolymer (N-vinylpyrrolidone-maleic anhydride) with N-diethylethanolamine, *International of Research in Engineering and Technology*, 3, 56-64, **2014**.
- [187] Arsalani, N., Fattehi, H., Entezami, A.A., Synthesis of amphiphilic diblock and random copolymers of styrene and N-vinylpyrrolidone using nitroxide-mediated living free radical polymerization, *Iranian Polymer Journal*, 15, 997, **2006**.
- [188] Turac, E., Sahmetlioglu, E., Demircan, A., Toppare, L., Synthesis and characterization of conducting copolymer of Trans-1-(4-methyl-3'-thienyl)-2-(ferrocenyl) ethene with EDOT, *Journal of Applied Polymer Science*, 126, 808-814, **2012**.
- [189] Pradel, J., Boutevin, B., Ameduri, B., Controlled radical polymerization of 1, 3-butadiene. II. Initiation by hydrogen peroxide and reversible termination by TEMPO, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 38, 3293-3302, **2000**.
- [190] Abbasian, M., Entezami, A.A., Nitroxide mediated living radical polymerization of styrene onto poly (vinyl chloride), *Polymers for Advanced Technologies*, 18, 306-312, **2007**.

- [191] Shenderovich, I., Kecki, Z., Wawer, I., Denisov, G., NMR and EPR study of the nitroxide radical tempo interaction with phenols, *Spectroscopy letters*, 30, 1515-1523, **1997**.
- [192] Keskin, B., *Maleik anhidrit Kopolimerinin Parasetamol İle Kimyasal Modifikasyonu Ve Kontrollü Salımının İncelenmesi*, **2009**.
- [193] Kesim, H., Rzaev, Z.M., Dinçer, S., Pişkin, E., Functional bioengineering copolymers. II. Synthesis and characterization of amphiphilic poly (N-isopropyl acrylamide-co-maleic anhydride) and its macrobranched derivatives, *Polymer*, 44, 2897-2909, **2003**.
- [194] Abbasian, M., Mahi, R., In-situ synthesis of polymer–silica nanocomposites by living radical polymerisation using TEMPO initiator, *Journal of Experimental Nanoscience*, 9, 785-798, **2014**.
- [195] Fernandes-Alnemri, T., Yu, J.-W., Datta, P., Wu, J., Alnemri, E.S., AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA, *Nature*, 458, 509-513, **2009**.
- [196] Padmanabhan, P., Otero, J., Ray, P., Paulmurugan, R., Hoffman, A.R., Gambhir, S.S., Biswal, S., Ulaner, G.A., Visualization of telomerase reverse transcriptase (hTERT) promoter activity using a trimodality fusion reporter construct, *Journal of Nuclear Medicine*, 47, 270-277, **2006**.
- [197] Gietz, R.D., Schiestl, R.H., Willems, A.R., Woods, R.A., Studies on the transformation of intact yeast cells by the LiAc/ss-DNA/PEG procedure, *Yeast*, 11, 355-360, **1995**.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

**Adı Soyadı** : Shahed ParviziKhosroshahi  
**Doğum Yeri** : İran  
**Medeni Hali** : Evli  
**E-Posta** : shahed@hacettepe.edu.tr  
**Adresi** : Çankaya / Ankara

### Eğitim

**Lisans** : Tabriz Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2003  
**Yüksek Lisans** : Tabriz Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2009

### Yabancı Dil ve Düzeyi

**İngilizce** : İleri Seviyede  
**Farsça** : İleri Seviyede  
**Türkçe** : İleri Seviyede  
**Arapça** : İleri Seviyede  
**Azerice** : İleri Seviyede

### İş Deneyimi

Staj, Tebriz Rafineri, İsomax Birimi, Tebriz, İran (6 Ay)  
Vardiya amiri, Azar Glass Industrial Group, Tebriz, İran (3 Sene)  
Farsça Öğretmeni, İran Kültür Müsteşarlığı, Ankara, Türkiye (4 Sene)

### Deneyim Alanları

Eğitim, Üretim, Laboratuvar, Yazarlık

## **Tezden Üretmiş Projeler ve Bütçesi**

Anhidrit İçeren Kopolimerlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Kopolimer-5-florourasil Konjugasyonu, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi Destek Projeleri (BAB), Proje No: BAB 6085-512.

Anhidrit İçeren Kopolimer-İlaç taşıyıcı Sistemlerinin Tasarımı, Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyonu (NMP) ve Karakterizasyonu, 2014-2016 TÜBİTAK Proje No: 114Z682, Ankara, Turkey.

## **Tezden Üretmiş Yayınlar**

Design, Synthesis and Characterization of a New Polymer-drug Conjugation by Charge Transfer Complex Copolymerization, Journal of Macromolecular Science, Part A. Değerlendirmede, Mart 2017.

## **Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu İle Katıldığı Toplantılar**

1. World Congress on Living Polymerizations and Polymers (LPP16), "Synthesis and Characterization of Anhydride Containing Copolymers by Nitroxide-mediated Living Free Radical Polymerization and Conjugation with Therapeutic agent: 5-Fluorouracil (5 FU)", 29 Mayıs-3 Haziran 2016, Budapeşte, Macaristan.
2. 5<sup>th</sup> International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, "Design, Synthesis and Characterization of Poly (MA-*alt*-NVP)-5FU Polymer-Drug Conjugate", 9-13 Mart 2015, Sitges (Barcelona), İspanya.
3. 14<sup>th</sup> international Bayreuth Polymer Symposium, "Conjugation Mechanism of Functional Polymeric Conjugates with Therapeutic agent: 5-fluorouracil (5FU)", 20-22 Eylül 2015, Bayreuth, Almanya.
4. International Symposium on Polymers from Renewable Resources, "Synthesis and Characterization of Poly (MA-*alt*-NVP) Copolymers and Conjugation with Fluorouracil (5-FU)", 8 Mayıs 2015, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
5. 6. Ulusal Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi, "Anhidrit İçeren Kopolimer-İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Tasarımı, Nitroksit Aracılığıyla Polimerizasyonu (NMP) ve Karakterizasyonu", 4-7 Eylül 2016. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 18/06/2017

Tez Başlığı / Konusu: ANHİDRİT İÇEREN KOPOLİMER-İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİN TASARIMI, NİTROKSİT ARACILIĞIYLA POLİMERİZASYONU (NMP) VE KARAKTERİZASYONU

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 174 sayfalık kısmına ilişkin, 18/06/2017 tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 10 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- ✓ 1- Kaynakça dâhil
- ✓ 2- Alıntılar dâhil
- ✓ 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları dâhil

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza  
23.06.2017

Adı Soyadı: Shahed ParviziKhosroshahi  
Öğrenci No: N11145317  
Anabilim Dalı: Kimya  
Programı: Polimer  
Statüsü:  Y.Lisans  Doktora  Bütünleşik Dr.

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Hatice Kaplan Can

(Unvan, Ad Soyad, İmza)